

11. BOKU-SYMPOSIUM TIERERNÄHRUNG

TAGUNGSBAND

Die Zukunft der Tierernährung

19. April 2012 in Wien



TIERERNÄHRUNG
TIERISCHE LEBENSMITTEL
ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE

Tagungsband

**11. BOKU-Symposium
TIERERNÄHRUNG**

Die Zukunft der Tierernährung

19. April 2012, Wien

**Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel
und Ernährungsphysiologie
Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie**

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



Tagungsband:

11. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG

Die Zukunft der Tierernährung

19. April 2012, Wien

Herausgeber:

Dr. Christiane Mair

Margit Kraft

Ao. Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Wetscherek

Dr. Karl Schedle

Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie

Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie

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 978-3-900962-99-9

Für den Inhalt der Beiträge sind allein die Autoren verantwortlich.

Inhaltsverzeichnis

Übersichtsvorträge

G Flachowsky Erwartungen der Tierernährung an die Futterpflanzenzüchtung und den Futterbau	1
K-H Südekum, B Edmunds und F Hippenstiel Stickstoffreduzierte Fütterung von Milchkühen – welches Potential geht von Grob- und Kraftfuttermitteln aus?	8
G Breves Optimierung der Stickstoffeffizienz aus physiologischer Sicht beim Monogaster	14
A Liesegang Einfluss von Calcium und Phosphor auf den Stoffwechsel beim Schwein	17
R Khiaosa-ard, C Iben and Q Zebeli Cattle production and its key role in sustainable food security and safety	23
W Wetscherek Einfluss der Tierernährung auf Effizienz und Ökologie in der Fleischerzeugung	35
I Strnad Antinutritive Substanzen in Österreichs Futtermitteln	36

Futterbewertung und Fütterung / Feed evaluation and feeding

K Rutzmoser und T Ettle Ein Modell zur Beschreibung der ME-Aufnahme von weiblichen Aufzuchtrindern	42
J Trautwein, K Schiel, C Koch, C Potthast und G Dusel Einsatz von Pressschnitzelsilage in der Mastrinderfütterung	47
G Wiedner, J Kraushofer, T Figl-Wolfsberger und R Leitgeb Ist der Futterwert von DDGS mit dem von Sojaextraktionsschrot in der Stiermast vergleichbar?	52
Z Formelová, M Chrenková, Z Čerešňáková, L Chrastinová and M Poláčiková Nutritional value of rye hybrid and its use in nutrition of ruminants	59
L Baldinger, W Zollitsch und W Knaus Maissilage ermöglicht bessere Stickstoffeffizienz der Bio-Kuhmilchproduktion als siliertes italienisches Raygras	65
T Ettle, A Obermaier und M Steyer Untersuchungen zum Austausch von Körnermais durch Weizen beim Milchvieh	70
C Koch, F Schöne, F-J Romberg, M Leiterer, H Steingaß und K-H Südekum Einfluss von Rapskuchen auf Jodgehalt in Milch und Blut von Kühen	75
W Wetscherek, K Schedle und C Mair Einsatz von getoasteten Sojabohnen in der Ferkelaufzucht	81
W Preißinger, H Lindermayer und G Propstmeier Überprüfung der DLG Fütterungsempfehlungen für 750 bzw. 950 g tägliche Zunahmen bei Mastschweinen bayerischer Genetik	87

H Kluge, J Bartelt, U Geier and GI Stangl Optimisation of the amino acid ratios in mineral feed for pigs improves nitrogen retention and carcass quality	93
E Humer und K Schedle Einfluss unterschiedlicher Maiskonservierungsverfahren auf die Phosphorverdaulichkeit beim Mastschwein	100
A Winkler, S Siegel, P Zinner, P Lindner und G Dusel Einfluss verschiedener Fütterungskonzepte bei unterschiedlichen Genetiken sowie Geschlecht (Eber vs. Kastrate) auf die zootecnischen Leistungsparameter bei Mastschweinen	106
W Preißinger, K Schedle, H Linder Mayer und G Propstmeier Ebermast – Überprüfung der Bedarfsempfehlung und Reduzierung des Skatolgehaltes durch Inulinzulagen	113
K Schedle, G Hansmann, J Bartelt, R Leitgeb and C Mair Impact of different levels of lysine and other essential amino acids on growth and slaughter performance as well as breast meat pH-value of broilers	121
A Bosse Rohfaserkonzentrate in Broilerdiäten verbessern die Proteinverdaulichkeit – gibt es ein Einsparpotential für Sojaschrot?	129
M Vodnansky, M Rajský und V Foltys Saisonale Unterschiede in der Verdauung des Rotwildes anhand der Untersuchung der Verdaulichkeit von in silierten Zuckerrübenpressschnitzeln enthaltenen Nährstoffen	134
M Chrenková, Ľ Chrastinová, A Lauková, M Poláčiková, Z Formelová, I Plachá, R Szabóová, Ľ Ondruška, V Parkányi, J Rafay and M Pogány Simonová The use of genetically modified maize (MON 88017 X MON 89034) in rabbit diets	139
G Svirnickas, S Bliznikas, V Kliseviciute, R Gruzauskas, A Raceviciute-Stupeliene, V Buckiuniene, A Dauksiene and C Relandeau Nutritional value of different genotypes of triticale	144
M Schoch, C Koch, F-J Romberg, C Potthast und G Dusel Untersuchung zur Silierung von Pressschnitzeln in Praxisbetrieben - Erhebung von Temperaturverlauf, Lagerungsdichte sowie Bestimmung der aeroben Stabilität	152
<u>Mengen- und Spurenelemente / Minerals and trace elements</u>	
VS Aichner, BR Paulicks und W Windisch Experimentelle Untersuchung zur Bioverfügbarkeit verschiedener Magnesiumverbindungen beim Absetzferkel	158
L Brucker und H Schenkel Feldstudie zum Einfluss verschiedener Selenquellen auf die Selenversorgung der Milchkuh	163
K Weiß und W Windisch Einfluss von marginalem Zinkmangel auf die Metabolite von Vitamin D im Blutplasma von Ferkeln	170
C Ionescu, V Vacchina, R Lobinski and D Bravo Capillary Electrophoresis Coupled with Inductively Coupled Plasma Spectrometry (CE-ICP-MS): a tool for determination of copper and manganese glycinate complexes in feeds and after in vitro gastro-intestinal simulations	174

Futterzusatzstoffe / Feed additives

H Schmidt, L Durst und J Rühle Einsatz phytogener Zusatzstoffe in der Milchfütterung auf zwei landwirtschaftlichen Betrieben über einen Zeitraum von 12 Monaten	180
Y Liu, M Song, TM Che, JA Soares, D Bravo, CM Maddox, JE Pettigrew and C Oguey Effects of capsicum and turmeric oleoresins on performance, diarrhea, gut morphology, immune and inflammatory status of weaned pigs infected with a pathogenic <i>E. coli</i>	186
M Veit, E Zentner, KR Wendler and I Mösenbacher-Molterer Effects of a saponin containing phytogetic feed additive on performance and ammonia- and odor emissions in growing-finishing pigs	191
L Jungbauer and KR Wendler Meta-analysis of the effects of a Phytogetic Feed Additive on nutrient digestibility in broilers	196
SH Lee, HS Lillehoj, SI Jang, KW Lee, DK Kim, MS Park, S Torreyson, WH Song, D Bravo and C Oguey Effect of anethole on immune parameters and performance of broilers challenged with <i>Eimeria acervulina</i>	200
C Oguey and D Bravo Effect of an encapsulated mixture of cinnamaldehyde, carvacrol and capsicum oleoresin and of NSP enzymes on performance of broilers fed different dietary energy levels	204
T Steiner, A Jordan and M Hulet Effects of Essential Oil Supplementation on Growth Performance of Turkey Hens Fed to 98 Days of Age	209
T Weber, M Veit, KR Wendler, J Weghuber and O Höglinger Evaluation of ammonia reduction potential of saponin containing plant materials by measurement of urease inhibition	213
A Juozaitis, V Juozaitienė, R Stankevičius, E Čereškienė, L Anskienė und A Muzikevičius Zum Einfluss des Einsatzes von Cyanobakterien <i>Spirulina platensis</i> auf die Zahl der somatischen Zellen in der Kuhmilch	216
F Göß, V Klose and G Wegl Antibiotic susceptibility of gut-derived lactobacilli from wild boar	220
S Fibi, F Göß, K Bayer, C Kern, G Wegl and V Klose Characterisation of lactobacilli isolated from wild boar for potential use as probiotic feed additive	224
E Chevaux and M De Onderza Rumen Specific Yeast improves efficiencies of the rumen and of feed of commercial dairy cows in a better manner than sodium bicarbonate	230
C Stoiber, I Dohnal, A Ganner und G Schatzmayr Evaluierung des Einflusses von verschiedenen Hefeprodukten auf die Pansen-Fermentation <i>in vitro</i>	234
S Kirwan Pansen im Gleichgewicht – Neue praktisch relevante Wege in der Azidoseprävention	239
C Lückstädt, P Theobald, K Wegleitner and L Durst Dietary potassium diformate in sows during pre-farrowing till weaning – effects on piglet performance and survival	245

P Philipps, M Bedford, T Dos Santos, RAHM Ten Doeschate und B Schröder Wirksamkeit einer neuartigen <i>E. coli</i> Phytase auf Phosphorfreisetzung und Stickstoffretention in Masthühnern	249
K Kozłowski, J Jankowski, H Jeroch and M Vereecken Efficacy of phytase in growing turkeys	253
C Schauerhuber, S Henikl and G Schatzmayr Differences in thermostability of four different phytase products	257
I Kühn, P Philipps, B Schröder und J Tossenberger Effekte einer Endo-Xylanase-Zulage auf ein energiereduziertes Futter beim Mastschwein	261
P Ader, U Roser, U Eidelsburger, G Fusconi and M Morlacchini Combination of fungal 3-phytase and organic acid blend on piglet performance	265
A Kroismayr, Q Li und K Schedle Einfluss von Hefezellwänden und Nukleotiden auf den Immunstatus von Absetzferkeln	271
P Schlegel, R Hall and B Viel Effects of diet complexity and a sweetener on weaned piglets' performance	275
P Matusevičius, J Juśkiewicz, P Zduńczyk, K Kozłowski, H Jeroch and Z Zduńczyk Evaluation of polyphenols' influence on rabbits' digestive processes	280
C Ionescu, P Ferreti and D Bravo Compared to a conventional treatment, a non activated charcoal reduced diarrhoea of calves subject to <i>Escherichia coli</i>	283
W Wetscherek und G Wetscherek-Seipelt Einsatz von Migulatoren auf Basis von Natur-Klinoptilolith im Ferkelfutter	287
D Kampf, S Mangelinckx, N De Kimpe und L Segers Untersuchungen zur Bewertung verschiedener Betainquellen und zur Stabilität von Vitaminen in Abhängigkeit der Zulage von Cholinchlorid oder verschiedener Betainquellen	293
<u>Futterqualität und unerwünschte Stoffe / Feed quality and undesired substances</u>	
V Nagl, H Schwartz, R Krska, D Moll, S Knasmüller, M Ritzmann, G Adam und F Berthiller Entwicklung und Validierung einer LC-MS/MS basierenden Analysemethode zur Bestimmung von Deoxynivalenol, Deoxynivalenol-3-Glucosid und deren Metaboliten in Urin und Kot von Ratten	300
K Ghareeb, WA Awad and J Böhm Effects of deoxynivalenol mycotoxin on growth performance, water consumption, and carcass characteristics of broiler chickens fed low protein diet	305
WA Awad, K Ghareeb, J Böhm, M Hess and J Zentek Fusarium toxin deoxynivalenol impairs Na ⁺ -dependent glucose absorption in chicken jejunal brush-border membrane	312
K Ghareeb, WA Awad and J Böhm Effects of aflatoxins and ochratoxin A on animal health	320
<u>Weitere Themen zur Tierernährung / Further aspects in animal nutrition</u>	
P Matusevičius, K Kozłowski and H Jeroch Ecological research of rabbits' nutrition	328

M Brestenský, S Nitrayová, P Patráš and J Heger The comparison of chromic oxide and acid insoluble ash as markers in digestibility studies	331
N Reisinger, S Schaumberger and G Schatzmayr Feed imbalances leading to laminitis and endotoxaemia in horses	336
M Steyer, T Ettle, H Spiekers und M Rodehutschord Messung des Körperfettgehalts von Milchkühen mit Bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA)	341
K Dusini, R Filipp, K Leutgeb, M Zunabovic, W Kneifel und KJ Domig LikeMeat – Vom Nischenprodukt zur akzeptierten Alternative	347
H Foissy Die wechselvolle Geschichte lebensmittelrechtlicher Normen, Qualitätsanforderungen und Bezeichnungen von pasteurisierter Trinkmilch	352
M Sager und D Schoder Element- und Spurenelementzusammensetzung von Milchpulver vom afrikanischen Markt im Vergleich mit authentischer Alpenmilch	353
Autorenverzeichnis	355
Sponsoren	358

Erwartungen der Tierernährung an die Futterpflanzenzüchtung und den Futterbau

Gerhard Flachowsky

Friedrich-Loeffler Institut (FLI), Braunschweig

Einleitung

Die in den zurückliegenden Jahren in vielen Ländern (auch in Österreich und in Deutschland) in der Forschung stark vernachlässigte Futtermittelkunde stellt die wichtigste Basis für eine ressourceneffiziente und wenig Emissionen verursachende und damit nachhaltige Erzeugung von Lebensmitteln tierischer Herkunft dar. Dabei wird häufig übersehen oder nicht wahr genommen, dass sich aus verschiedenen Gründen die Zusammensetzung der Futtermittel teilweise dramatisch verändert hat. Als Ursachen für diese Entwicklungen können u.a. angeführt werden:

- Entwicklungen auf dem Gebiet der Pflanzenzüchtung (sowohl herkömmliche Züchtung als auch grüne Biotechnologie)
- Veränderungen bei der verarbeitenden Industrie (erhöhte Ausbeute wertvoller Bestandteile)
- Neue Nutzungsformen (z.B. Bioenergie) und damit Anfall bekannter Nebenprodukte in größeren Mengen (z.B. Schlempe bzw. DDGS; Rapskuchen und/oder -extraktionsschrot, Glycerin) und/oder teilweise veränderter Zusammensetzung
- Veränderte agrotechnische Maßnahmen, z.T. geringere Düngung, andere Anbautechniken etc.

Auf der anderen Seite haben auch globale Entwicklungen zu Veränderungen in der Futterwirtschaft geführt bzw. werden verstärkt zu Veränderungen führen. Ausgehend von globalen Entwicklungen wird im Beitrag versucht, die Herausforderungen für die Futterwirtschaft zu erkennen und entsprechende Ziele in die Darstellung einzubeziehen, wie z.B.:

- Effiziente Nutzung begrenzt verfügbarer Ressourcen bei der Erzeugung von hohen und stabilen Mengen hochwertiger pflanzlicher Biomasse,
- Erhöhte Toleranz der Pflanzen gegen biotische und abiotische Stressoren,
- Geringer Gehalt an unerwünschten Inhaltsstoffen in den Futterpflanzen
- Bereitstellung von Futterpflanzen mit hohem Gehalt an wertbestimmenden Inhaltsstoffen
- Reaktionen auf bereits eingetretene bzw. zu erwartende Klimaänderungen

Dabei ist u.a. zwischen lokalen (europäischen) und globalen Entwicklungen zu unterscheiden. Auch auf einzelne Zielkonflikte, die momentan Themen öffentlicher Diskussionen sind, wie z.B.

- die Zweckmäßigkeit/Notwendigkeit der Wiederkäuerhaltung zur Grundfutternutzung, auch von minderwertigem Grasland in der Tropen/Subtropen und die Emissionen von Methan oder
- der Forderung nach „standstabileren“ Futterpflanzen und intensiverer Lignifizierung (hohe Standfestigkeit) auf der einen Seite mit der Folge geringerer Futteraufnahme und Verdaulichkeit auf der anderen

kann nicht näher eingegangen werden. Auf weiterführende neuere Literatur zu verschiedenen Themen wird verwiesen, auf verschiedene Details wird im Vortrag eingegangen.

Globale Entwicklungen

Die gegenwärtige Situation ist u.a. durch folgende Entwicklungen gekennzeichnet

- Weiter ansteigende Erdbevölkerung (von gegenwärtig etwa 7 Mrd. Menschen auf etwa 9 Mrd. Menschen in etwa 2050; FAO 2009a,b)
- Verminderung der je Einwohner begrenzt verfügbaren Ressourcen (wie Ackerfläche oder Landw. Nutzfläche insgesamt; fossile Energieträger, Süßwasser, verschiedene mineralische Rohstoffe., wie z.B. Phosphor)
- Zunehmende Emissionen (sowohl Gase mit Treibhausgaspotential als auch Substanzen mit lokaler Bedeutung, wie N, P, verschiedene Spurenelemente u.a.).

Infolge dieser Situation wird wiederholt die Frage nach den Grenzen des Wachstums, vor allem unter Berücksichtigung des ansteigenden Verzehrs/Verbrauches an Lebensmitteln tierischer Herkunft gestellt. Unter Berücksichtigung der oben erwähnten Trends soll nachfolgend auf ausgewählte Aspekte etwas detaillierter eingegangen werden.

Unter Berücksichtigung der zu erwartenden Bevölkerungsentwicklung wird dem „Bedarf“ an Lebensmitteln tierischer Herkunft in der öffentlichen Diskussion besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Dabei ist einzuschätzen, dass essbares Eiweiß tierischer Herkunft nicht unbedingt Bestandteil der menschlichen Nahrung sein muss, wie Veganer belegen; dass jedoch in Regionen, in denen eine bestimmte Mindestmenge Eiweiß (z.B. etwa 1/3 des Gesamtbedarfes bzw. etwa 20g/Einwohner und Tag) aus Lebensmitteln tierischer Herkunft stammt, deutlich weniger Mangelkrankungen beobachtet werden (z.B. WHO et al. 2007). Diese Aussage ist hauptsächlich für Schwangere, Stillende sowie Kinder und Jugendliche zutreffend. Die Gründe sind vor allem in einer ausgewogeneren Ernährung mit essentiellen Aminosäuren und verschiedenen Spurennährstoffen zu suchen. In Tabelle 1 werden globale „Eckwerte“ sowie die mittlere Aufnahme dargestellt.

Tabelle 1: Verzehr an Milch, Fleisch und Eiern (kg je Einwohner und Jahr) sowie Protein tierischer Herkunft (g je Einwohner und Tag bzw. % der Gesamtaufnahme; Min. und Max.-Werte; globale Mittel sowie Deutschland und Österreich zum Vergleich; Daten von 2007; FAO 2009a)

Lebensmittel- bzw. Proteinaufnahme	Minimum	Mittel	Maximum	Deutschland/Österreich
Milch	1,3 (PR Kongo)	82,1	367,7 (Schweden)	248,7/226,6
Fleisch ¹⁾	3,1 (Bangladesh)	41,2	142,5 (Luxemburg)	83,3/109,1
Eier	0,1 (PR Kongo)	9,0	20,2 (PR China)	11,8/13,3
Essbares Protein tierischer Herkunft (g je Einwohner und Tag)	1,7 (Burundi)	23,9	69,0 (USA)	52,8/60,2
Anteil von Protein tierischer Herkunft an der gesamten Proteinaufnahme (%)	4,0 (Burundi)	27,9	59,5 (USA)	53,7/56,2

¹⁾ Vermutlich Schlachtkörpermasse (Fleisch plus Knochen)

Unter globaler Sicht sollten Futterwirtschaft und Fütterung so gestaltet werden, dass die oben formulierten Ziele erreicht werden können. Das hätte zur Folge, dass bei weitgehender Beibehaltung des „westlichen Lebensstils“ in den sog. entwickelten Ländern und bei Anstieg des Proteinverzehrs in den anderen Regionen der Erde auf etwa 20g essbares Tierprotein je Einwohner und Tag bis zum Jahre 2050 annähernd eine Verdoppelung der Erzeugung von Lebensmitteln tierischer Herkunft erforderlich wäre (Steinfeld et al 2006).

Ressourceneffizienz

Unter Berücksichtigung der oben erwähnten globalen Entwicklungen wird es für die Pflanzenzüchtung in den nächsten Jahren verstärkt darauf ankommen, Futterpflanzen zur Verfügung zu stellen, die die global unbegrenzt verfügbaren Ressourcen, wie z.B. Sonnenlicht bzw. -energie, Nährstoffe aus der Atmosphäre, wie z.B. Kohlendioxid und Stickstoff unter Einbeziehung des global verfügbaren Genpools (Bedeutung der Biodiversität!) möglichst umfassend nutzen (s. Tab. 2). Auf der anderen Seite sollten begrenzt verfügbare Ressourcen, wie z.B. Ackerfläche, Wasser, CO₂ und Phosphor so effektiv wie möglich genutzt werden.

Tabelle 2: Potentiale zur Erzeugung phytogener Biomasse und ihre Verfügbarkeit je Einwohner unter Berücksichtigung der ansteigenden Bevölkerung (↑ Anstieg, ↓ Abfall, ↔ keine wesentliche Veränderung)

Pflanzennährstoffe aus der Atmosphäre (N ₂ , CO ₂)	↑ ↔
Sonnenenergie	↔
Landwirtschaftliche Fläche	↓
Wasser	↓
Fossile Energie	↓
Mineralische Pflanzennährstoffe	↓
Variation im genetischen Pool	↑

Bezüglich der Ressource Fläche kommt es auf hohe und stabile Erträge der Pflanzen bzw. Leistungen der Tiere an. Um beispielsweise die aus „Livestock's Long Shadow“ (Steinfeld et al. 2006) für 2050 global prognostizierten Fleisch- und Milchverbrauchsmengen (52kg Fleisch und 116kg Milch je Einwohner und Jahr; vergl. mit Angaben in Tab. 1) bei niedrigem, mittlerem bzw. hohem Ertrags- und Leistungsniveau 1 500, 600 bzw. 300m² Ackerfläche je Einwohner und Jahr zur Erzeugung der entsprechenden Futtermittel notwendig. Da im Jahre 2050 insgesamt je Einwohner auf der Erde nur etwas mehr als 1 500m² zur Verfügung stehen werden, charakterisieren die oben angegebenen Zahlen die gewaltigen Herausforderungen für Pflanzenzüchtung, Futterbau und Fütterung.

Die Ressource fossile Energie wird vor allem bei der Düngerezeugung, der Bodenbearbeitung, Pflege-, Ernte- und Transportarbeiten sowie bei der Futteraufbereitung und Fütterung benötigt.

Neben der Fläche kommt vor allem dem Wasser eine entscheidende Bedeutung zur Erfüllung der oben erwähnten Zielstellungen zu. Gegenwärtig werden über 70% des Nutzwassers in der Landwirtschaft verbraucht (s Details bei Hoekstra and Champaign 2009, Schlink et al; 2010). Die umwelt- und energieverträgliche Gewinnung von Nutzwasser aus dem Meer oder die Anpassung von Nutzpflanzen an Salzwasser (abiotischer Stress) können Alternativen darstellen.

Der Mineralstoff Phosphor wird von vielen Autoren als eine extrem begrenzt verfügbare natürliche Ressource eingeschätzt (nur für etwas mehr als 100 Jahre ausreichend). In einer neueren Kalkulation mit mehr dynamischen Modellen gelangten Scholz und Wellmer (2012) zu der Einschätzung, dass nach gegenwärtigem Kenntnisstand die P-Ressourcen voraussichtlich noch über 1000 Jahre ausreichen. Dieses Beispiel zeigt, dass komplexe Bewertungen erforderlich sind, um Fehleinschätzungen und dadurch auftretende „Hektik in Wissenschaft und Politik“ zu vermeiden.

Ausgehend von dieser Situation wurde wiederholt auf die Wünsche und Erwartungen an die bzw. die Herausforderungen für die Pflanzenzüchtung (z.B., SCAN 2009, The Royal Society 2010; Godfray et al. 2010; Foley et al. 2011) als „Startpunkt“ des Pflanzenbaues und damit für die Erzeugung von Futter- und Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft sowie die gesamte Nahrungskette hingewiesen.

Minimierung des Gehaltes an „unerwünschten“ Inhaltsstoffen

In verschiedenen Ausarbeitungen wurde wiederholt auf die nachteiligen Wirkungen von unerwünschten Stoffen in den Futtermitteln auf die Konsequenzen für Gesundheit und Leistungshöhe der Tiere hingewiesen. Für den Einsatz in der Fütterung wurden maximal zulässige Gehalte formuliert (z.B. Flachowsky, 2006; Verstraete 2011; s. EFSA-Dokumente des CONTAM-Panels). Dabei kommen alle Autoren übereinstimmend zu der Empfehlung, dass es vermutlich einfacher und auch billiger ist, die Gehalte an unerwünschten Stoffen in den Futtermitteln niedrig zu halten als sie nachträglich durch meist aufwändige Verfahren zu vermindern. Folgende Zielstellungen können formuliert werden:

Reduzierung von Inhaltsstoffen, die die Verdaulichkeit/Verfügbarkeit wertbestimmender Inhaltsstoffe beeinflussen können, wie z.B.:

- Lignin
- Phytat
- Enzym-„Hemmer“
- Tannine
- Silikat

Geringere Konzentration an toxischen Substanzen (sekundäre Pflanzenbestandteile), wie z.B.:

- Alkaloide
- Glucosinolate
- Phenol-Verbindungen
- Cyano-Verbindungen
- Phytoestrogene

Erhöhte Resistenz gegenüber Toxin-bildenden Pilzen und weiteren Stressoren, wie z.B.

- Fusarien und andere Mykotoxinbildner
- Schimmelpilze.
- Mutterkorn

Minimale Rückstände, die aus menschlichen Aktivitäten oder der Bodenzusammensetzung resultieren,

- Pflanzenschutzmittel
- Schwermetalle.

Erhöhung des Gehaltes an „erwünschten“ Inhaltsstoffen

In der Erhöhung des Gehaltes an wertbestimmenden Inhaltsstoffen in den Pflanzen besteht gegenwärtig ein bedeutsames Ziel der überwiegend durch die private Wirtschaft betriebenen „grünen Bio-

technologie", vor allem, um die öffentliche Akzeptanz dieser Züchtungsmethode bei Verbrauchern zu verbessern. Dabei geht es u.a. um die Erhöhung des Gehaltes an bestimmten Stoffen sowie die Ausprägung von Substanzen, die bisher nicht oder nur in Spuren in Pflanzen vorkamen, wie z.B.:

- Nährstoffvorstufen (z.B. β -Karotin)
- Nährstoffe, wie Aminosäuren, Fettsäuren, Mineralstoffe, Vitamine sowie „neue“ Substanzen (wie z.B. Stearidonic Säure; C18:4 n-3; z.B. Rymer et al. 2011)
- Substanzen, die die Nährstoffausnutzung verbessern können, wie Enzyme
- Substanzen mit „Sondereffekten“, wie z.B. Probiotika
- Substanzen mit sensorischen Eigenschaften (sek. Pflanzeninhaltsstoffe)

Aus der Sicht der Tierernährung haben derartige Aktivitäten nicht die höchste Priorität, da die Tierernährung (zumindest in Europa und in anderen „entwickelten“ Regionen) über ein umfangreiches Potential verfügt, um über Zusatzstoffe evtl. Defizite an Aminosäuren und anderen Spurennährstoffen in den Rationen zu beseitigen (Flachowsky 2008). Für die Humanernährung sind derartige Entwicklungen anders zu bewerten. Höhere Gehalte an essentiellen Nährstoffen (z.B. Lysin, Fe) oder Nährstoffvorstufen (z.B. β -Karotin; Paine et al. 2005) in Grundnahrungsmitteln können die Versorgung ganzer Bevölkerungsgruppen mit derartigen Nährstoffen wesentlich verbessern.

Große Bedeutung für die Tierernährung haben dagegen die Zuchtziele hoher Verzehr und/oder hohe Verdaulichkeit der Futtermittel mit dem Ziel einer hohen Energieaufnahme bzw. eines relativ geringen Anteils des („unproduktiven“) Erhaltungsbedarfes an der gesamten Energieaufnahme der Tiere. Die Auswirkungen einer hohen Futterraufnahme auf Ressourceneffizienz und Emissionen haben wir kürzlich für die Milchkuh modellhaft demonstriert (Niemann et al. 2011).

Konsequenzen möglicher Klimaänderungen

Das Thema „Klimaänderungen“ reflektiert sich in jüngster Vergangenheit verstärkt in den Zielstellungen der Pflanzenzüchtung und in der Gestaltung von Futterbau und Futterwirtschaft. In einer neuen Serie von Fachbüchern (z.B. Reynolds, 2010; Newman et al. 2011), in vielen wissenschaftlichen Einzelbeiträgen sowie in Papieren von Gremien und Arbeitsgruppen (z.B. BMELV/DGFZ, 2011) wird umfassend auf Auswirkungen möglicher Klimaänderungen auf den Pflanzenbau einschl. der Qualität von Futterpflanzen und mögliche Anpassungsstrategien eingegangen. Dabei geht es sowohl um negative Auswirkungen, wie z.B.:

- schnellere und stärkere Lignifizierung, Absenkung von Futterwert und -aufnahme
- Mindererträge bis Ertragsausfall infolge Trockenheit, Hitze, Extremwetterlagen u.a.
- Verstärkter Schädlingsbefall, gezielte phytosanitäre Maßnahmen

zu erwartende positive Effekte, wie z.B.:

- Höhere Masseerträge (vor allem bei C3-Pflanzen) im Ergebnis der höheren Konzentration des Pflanzennährstoffes CO₂ in der Luft (s. Reynolds 2010; Newman et al. 2011)

und mögliche Anpassungsstrategien/Herausforderungen für Pflanzenzüchtung und Futterbau, wie z.B.:

- Bessere Anpassung der Pflanzen an biotische und abiotische Stressoren
- Zucht von Futterpflanzen, die weniger stark „lignifizieren“
- Intensivere Nutzung der Klimaänderungen durch C3 bzw. C4-Pflanzen
- Anbau „neuer“ Futterpflanzen (z.B. Hirse)
- Verbesserte Futtermittelwirtschaft gegen Ertragsausfälle (mehr Konservate, Nebenprodukte)
- Anpassung der Rationen/Futtermischungen an die veränderten Zusammensetzung von Futtermitteln

Anfall „neuer“ (in größeren Mengen/nach anderen Technologien erzeugter) Futtermittel

Unter diesem Thema sind vor allem die bekannten, aber in größeren Mengen und infolge anderer Technologien auch mit veränderter Zusammensetzung anfallenden Nebenprodukte der Bioenergieerzeugung, wie DDGS (Dried Distillers Grains with solubles), Rapsextraktionsschrot bzw. –kuchen sowie Glycerin zu verstehen. Zu dieser Thematik sind in den letzten Jahren umfangreiche Publikationen erschienen, die demnächst durch die FAO (Makkar 2012) in einem umfangreichen Buch zusammenfassend bewertet werden.

Neben diesen Entwicklungen sollten auch wieder verstärkt faserreiche einheimische Nebenprodukte des Getreideanbaus (z.B. Stroh) sowie die Nebenprodukte der Schlachtkörperverarbeitung (Landtiere, Fische) sowie Speisereste nach entsprechenden Studien als Futtermittel berücksichtigt werden.

Schlussfolgerungen

Unter Berücksichtigung der oben angeführten Aspekte können aus Sicht der Tierernährung u.a. folgende Herausforderungen für die Futterpflanzenzüchtung und den Futterbau formuliert werden:

- Hohe und stabile Erträge (vor allem hoher Energiegehalt) mit geringem Einsatz begrenzt verfügbarer Ressourcen (Low Input Varieties)
- Erhöhte Toleranz gegen biotische und abiotische Stressoren
- Entwicklung optimierter Futterbausysteme (hoher Futterwert, Bodenfruchtbarkeit)
- Züchtung von Futterpflanzen, die eine hohe Aufnahme von hoch verdaulichen Futtermitteln durch die Nutztiere auch bei Klimaänderungen garantieren
- Minimaler Gehalt an unerwünschten Inhaltsstoffen
- Gute Lagerungs- und Konservierungseigenschaften

Literatur

BMELV/DGFZ (2011): "Der Klimawandel und die Herausforderungen für die Nutztierhaltung von morgen in Deutschland" Positionspapier einer AG, unveröffentl., 28 S

FAO (2009a): The state of food and agriculture – Livestock in the balance. Rome, 180 p

FAO (2009b): How to feed the world in 2050. Rome, 120 p

Flachowsky, G. (2006): Möglichkeiten der Dekontamination von „Unerwünschten Stoffen“ nach Anlage 5 der Futtermittelverordnung, Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft 294, 292 S

Flachowsky, G. (2008): What do animal nutritionists expect from plant breeding? Outlook on Agriculture, 37, 95-103

Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, Cassidy ES, Gerber JS, Johnston M, Mouller ND, O`Connell C, Ray DK, West PC, Balzer C, Bennett EM, Carpenter SR, Hill J, Monfreda C, Polasky S, Rockström J, Sheehan J, Siebert S, Tilman D, Zaks DPM., (2011): Solutions for a cultivated planet. Nature 478:337-342

Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Wawrence D, Muir J, Pretty J, Robinson S, Thomas SM, Toulmin C (2010): Food security: The challenge of feeding 9 billion people. Science 327:812-818

Hoekstra, HY, Champaign, AK, (2007): Water footprints of nations: water use by people as a function of their consumption pattern. Water Reviews Manag. 21, 35-48

Makkar, H. (2012): By-products from biofuel in animal nutrition, (in preparation; Review book by FAO, Rome, ed. by H. Marinder, about 250 p.)

Newman, JA., Anand, Henry, HAL., M., Hunt, S., Gedalof, Z. (2011). Climate Change Biology. CAB International, Wallingford, UK, and Cambridge, USA, 289 pp

Niemann H, Kuhla B, Flachowsky G (2011): The perspectives for feed efficient animal production. J. Animal Sci. 89:4344-4363

Paine JA, Shipton CA, Chaggar S, Howells RM, Kennedy MJ, Vernon G, Wright SY, Hincliffe E, Adams JL, Silverstone AL, Drake R (2005): Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. *Nat Biotechnol.* 23:482-487

Reynolds, MP. (2010): *Climate change and Crop Production*. CAB International, Wallingford, UK, and Cambridge, USA, 320 pp.

Rymer C, Hartnell GF, Givens DI (2011): The effect of feeding modified soyabean oil enriched with C18:4n-3 to broilers on the deposition of n-3 fatty acids in chicken meat. *Brit. J. Nutr.* 105:866-878

SCAR (EU Commission – Standing Committee on Agricultural Research) (2008): *New challenges for agricultural research: Climate change, food security, rural development, agricultural knowledge systems*. The 2nd SCAR Foresight Exercise, Brussels, Dec. 2008; 112 pp.

Schlink, AC., Nguyen, M-L., Viljoen, GJ. (2010):. Water requirements for Livestock production: a global perspective. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 29, 603-619

Scholz, RW., Wellmer, F-H., (2012): Criticizing oversimplified models of peak phosphorus: Rationalizing the availability and supply of mineral resources. *Economic Eval. in Exploration*, submitted

Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M, de Haan C. (2006): *Livestock's long shadow: Environmental issues and options*. Food and Agric. Organization of the United Nations (FAO), Rom

The Royal Society. (2009): *Reaping the benefits: Science and the sustainable intensification of global agriculture*. RS Polica document 11/09, issued Oct 2009, RS 1608. ISBN 978-0-85403-784-1, 64 pp.

Verstraete, F. (2011): Risk management of undesirable substances in feed following updated risk assessments. *Toxicology and Applied Pharmacology*, Online available, doi 10.1016/j.taap.2010.09.015

WHO, FAO and UNU (2007): *Protein and amino acid requirements in human nutrition*. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. World Health Organization Technical Report Series, 935:1-265

Autorenanschrift

Prof. Dr. Gerhard Flachowsky
Institut für Tierernährung, Friedrich-Loeffler Institut (FLI), Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Bundesallee 50
D-38116 Braunschweig
E-Mail: gerhard.flachowsky@t-online.de

Stickstoffreduzierte Fütterung von Milchkühen – welches Potential geht von Grob- und Kraftfuttermitteln aus?

Karl-Heinz Südekum, Bronwyn Edmunds und Friederike Hippenstiel

Institut für Tierwissenschaften, Universität Bonn

Einleitung

Der Titel des vorliegenden Beitrags setzt mit der Formulierung des Titels und der Verwendung des Begriffs „stickstoffreduziert“ voraus, dass eine Absenkung der Aufnahme an Stickstoff (N) oder Rohprotein (N x 6,25) von Milchkühen ein erstrebenswertes Ziel ist und dass Futtermittel zur Erreichung dieses Ziels beitragen können. Eine wesentliche Begründung für diese Annahme liegt in der in unzähligen Quellen belegten außerordentlich großen Variation in der Effizienz der Nutzung des in den Futtermitteln enthaltenen Stickstoffs (N) und darin, dass diese Variation sowohl bei niedrigen als auch bei hohen Leistungen zu beobachten ist. Wird die Nutzungseffizienz ausgedrückt als Anteil des Futter-N, der in der Milch wiedergefunden wird (Futter-N-Nutzungseffizienz, Futter-NNE), kann diese Größe um mehr als den Faktor 2 variieren. Aus einer neueren Auswertung von Powell et al. (2010) ergibt sich in Milchviehbetrieben für die Futter-NNE ein Bereich von unter 20 bis über 35 % (Tabelle 1). Chase (2003) klassifizierte die Futter-NNE folgendermaßen: < 20 %, sehr niedrig; 20-25 %, verbesserungswürdig; > 25-30 %, typischer Bereich für viele Betriebe und auch für etliche experimentelle Studien; > 30-35 %, überdurchschnittlich; > 35 %, exzellent.

Tabelle 1: Größenordnungen der N-Aufnahme, N-Abgabe mit der Milch und daraus abgeleiteter Futter-N-Nutzungseffizienz (Futter-NNE¹) von Milchkühen (verschiedene Quellen aus Powell et al. 2010)

N-Aufnahme ² g/(Kuh x Tag)	Futter-NNE (%)
512-666	26-33
289-628	22-29
200-750	21-32
496-897	21-36
838-1360	16-24

¹ Anteil des täglich mit dem Futter aufgenommenen N, der in der Milch erscheint.

² Die Daten innerhalb einer Zeile geben jeweils die Minimum-Maximum-Werte der von Powell et al. (2010) ausgewerteten Studien an.

Auch wenn die in Tabelle 1 gezeigte Variation nicht ausschließlich auf futtermittelbedingte Ursachen zurückzuführen ist, spielen futtermittelbedingte Faktoren eine erhebliche Rolle, wie in diesem Beitrag exemplarisch ausgeführt werden soll. Dabei werden zunächst Literaturlauswertungen herangezogen, um generelle Futtermittelkenngrößen in ihrem Einfluss auf die Futter-NNE zu charakterisieren, bevor auf einige spezifischere Merkmale von Grob- und Kraftfuttermitteln eingegangen wird. Für eine umfassendere Betrachtung zu den Reduzierungspotenzialen N-haltiger Emissionen durch Fütterungsmaßnahmen sei der Leser auf neuere Übersichtsarbeiten verwiesen, von denen hier exemplarisch die Arbeit von Flachowsky et al. (2011) genannt werden soll.

Generelle Einflussgrößen

In einem früheren Beitrag zu dieser Tagungsserie wurde bereits darauf hingewiesen, dass eine bessere Anpassung der Proteinversorgung an den Bedarf der Tiere sowohl eine präzisere Futterbewertung als auch eine genauere Schätzung des Bedarfs erfordert und es wurden Hinweise gegeben, wo Fortschritte in beiden Bereichen am ehesten zu realisieren sind (Südekum 2010). Das soll deshalb nicht wiederholt werden. Wichtig erscheint aber hier der Hinweis, dass trotz vieler komplexer Ansätze einer differenzierteren Bewertung von Futtermitteln und Rationen eine bessere Ressourcennutzungseffizienz zu erreichen, nach wie vor der Rohproteingehalt der Ration beziehungsweise die tägliche Rohproteinaufnahme von wesentlichem Einfluss auf die Futter-NNE bzw. die erzielbare Milchproteinleistung ist. So zeigten Huhtanen und Hristov (2009) in einer umfangreichen Meta-Analyse, dass die Milchproteinleistung nur aus der Rohproteinaufnahme ohne Berücksichtigung der ruminalen Rohproteinabbaubarkeit gut vorhergesagt werden konnte. Arriaga et al. (2009) zeigten in einer Studie, in der Daten von 64 Milchviehbetrieben genutzt wurden, dass eine effizientere Futter-NNE vor allem durch eine bessere Anpassung der Proteinversorgung an den Bedarf erreicht werden konnte, d. h. eine gezielte Nutzung vorhandener Daten und etablierten Wissens. Beide Studien können dahingehend interpretiert werden, dass auf der einen Seite allein durch eine N-reduzierte Fütterung die Futter-NNE deutlich verbessern kann, allerdings nur dann, wenn dies ohne eine Verminderung der Milchproteinleistung der Tiere einhergeht.

Grobfuttermittel

Bei Fütterung von Wiederkäuern auf Basis von Maissilagen ist eine hohe Futter-NNE gut zu erreichen, weil der niedrige Rohprotein-Gehalt von Maissilage in Kombination mit einem hohen Energiegehalt grundsätzlich bei produktiven Wiederkäuern die Ergänzung mit proteinreicheren Futtermitteln erfordert, deren Qualität entsprechend berücksichtigt werden kann. Dennoch haben auch Maissilagen ein noch ungenutztes Potenzial zu Verbesserung der Futter-NNE (Südekum 2009). Generell steht bei Maissilage jedoch hinsichtlich der Futter-NNE im Vordergrund, wie die Gesamt-Effizienz der N-Nutzung bei der Erzeugung der jeweiligen zur Ergänzung verwendeten Proteinfuttermittel ist. Dies ist von hoher Relevanz auch für die Gesamtbewertung der N-Nutzungseffizienz in der Wiederkäuerfütterung, sprengt aber den Rahmen der in diesem Beitrag anzusprechenden Aspekte.

Für Grünlandaufwüchse gilt, dass N-Düngung, Leguminosen im Bestand und vor allem ein früher Nutzungszeitpunkt zu – gemessen am Bedarf der Tiere – überhöhten Rohprotein-Gehalten bei Grünfutter und Konserven von grasbasierten Grünlandaufwüchsen führen. Mit 150 bis 200 g/kg Trockenmasse (TM) liegen die Rohprotein-Gehalte weit über den Gehalten an nXP, wodurch sich z. T. stark positive ruminale N-Bilanzen (RNB) ergeben, die es bei einer sachgerechten Rationsgestaltung auszugleichen gilt. Andernfalls kommt es zu einer ineffizienten Futter-NNE bei Milchkühen, die bei ausschließlicher Fütterung von Grünlandfuttermitteln häufig 20 % nicht oder nur geringfügig übersteigen dürfte. Eine Ursache für die im Vergleich etwa zu maissilagebasierten Rationen niedrige Futter-NNE dürfte in der niedrigen Effizienz der mikrobiellen Rohproteinsynthese liegen (z. B. Givens und Rulquin 2004; Steingäß 2010). Dies deutet darauf hin, dass vor allem die Energiekonzentration und die Zusammensetzung der energieliefernden Futterinhaltsstoffe (wasserlösliche Kohlenhydrate, Zellwandkohlenhydrate) einen Einfluss auf die Futter-NNE haben. In Übereinstimmung mit dieser Sichtweise stellten Huhtanen et al. (2010) in einer Literaturlauswertung fest, dass bei Grobfuttermitteln die Milchproteinsynthese vor allem von der Verdaulichkeit und der realisierbaren TM-Aufnahme abhängt, weniger von der Art und den Eigenschaften des Futterrohproteins. Gleichwohl gibt es Möglichkeiten, durch geeignete Maßnahmen auch die Qualität des Futterrohproteins zu verbessern und dadurch zu einer Verbesserung der Futter-NNE beizutragen, wie nachfolgend exemplarisch ausgeführt werden soll.

Betrachtet man zunächst die Bandbreite der möglichen Proteinversorgung von Milchkühen aus Grasprodukten (Tabelle 1), wird deutlich, dass das Protein- zu Energie-Verhältnis (nXP/NEL) sehr variabel

ist und die Anforderungen an die Ration von Milchkühen (je nach Leistungshöhe 20-23 g nXP/MJ NEL) nur bedingt erfüllen.

Tabelle 2: Bandbreite der Proteinversorgung aus Grasprodukten (aus Spiekers und Edmunds 2012)

Konservierung	Silage	Heu	Cobs
Rohprotein, % der Trockenmasse (TM)	15 - 18	12 - 15	15 - 20
UDP, % des XP	15	25	40
NEL, MJ/kg TM	6,0 - 6,5	5,5 - 6,0	6,0 - 6,6
nXP, g/kg TM	135 - 145	125 - 135	155 - 175
nXP, g/MJ NEL	23	24	25/26

Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, dass zunächst die Art der Konservierung erhebliche Auswirkungen auf den Anteil an im Pansen unabgebautem Rohprotein (UDP) hat. Durch Trocknung steigt der UDP-Anteil. Beim Heu ergeben sich jedoch als Probleme die Sicherheit der Witterung, die Bröckelverluste und die hohen Erntekosten. Bei der Heißlufttrocknung lässt sich die Qualität am besten steuern. Als Problem sind hier die hohen Kosten der Trocknung und mögliche negative Auswirkungen auf die CO₂-Bilanz zu nennen.

Als Standardverfahren hat sich daher die Silierung der Grasprodukte etabliert. Bei der Silierung kann sich jedoch die Wertigkeit des Rohproteins erheblich verändern. Ein großer Teil des Futterproteins wird zu kleineren Molekülen abgebaut (Tabelle 3). Demgegenüber liegen in Grünfutter und Heu und auch bei Cobs in der Regel etwa 80 % des enthaltenen N als Reinprotein vor. Durch den Proteinab- und -umbau während der Silierung kann der Anteil Reinprotein in der Silage auf deutlich weniger als 50 % fallen. Für Tiere mit geringer Leistung ist dies weniger problematisch, da hier mehr die N-Versorgung der Bakterien über die Gewährleistung einer ausreichenden RNB als das UDP im Vordergrund steht.

Tabelle 3: Literatursauswertung zum Rohproteinabbau durch Silierung (Hoedtke et al. 2010)

Fraktion	Fraktion (% des N)	
	Reinprotein-N	Nichtprotein-N
Grünfutter	75 - 90	25 - 10
Silage	20 - 50	50 - 80

Zur Sicherung der nXP-Versorgung sollte die Silageerzeugung daher auf einen geringen Abbau des Rohproteins abheben. Ein verminderter Proteinabbau geht in der Regel mit geringeren Gärverlusten einher, so dass auch der Energiegehalt profitiert. Ferner steigt der nXP-Gehalt und die Futteraufnahme ist vielfach verbessert. Für die Gesundheit der Tiere kann ein geringerer Rohproteinabbau ebenfalls von Vorteil sein. Als Ziel sollte der Anteil Reinprotein-N in Grassilagen bei über 50 % des Gesamt-N liegen.

Welche konkreten Maßnahmen zur Verbesserung des Proteinwerts von Grünlandaufwüchsen ergriffen werden können, soll exemplarisch an einem neueren Versuch erläutert werden (Edmunds 2012). Wiesengras wurde hierzu schnell in der Sonne oder langsam im Schatten auf 20 %, 35 %, 50 % und 65 % TM angewelkt und in Laborsilos einsiliert. Nach Abschluss der Silierung erfolgten umfangreiche Untersuchungen zum Proteinwert. Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, dass unterschiedliche Welkzeiten erreicht wurden und die Rohproteingehalte davon weitgehend unabhängig waren. Mit zunehmender Welkzeit und steigendem TM-Gehalt nahmen die Energiegehalte jedoch ab. Zu erklären ist dies durch

Atmungs- und Bröckelverluste. Im Gegensatz dazu stieg der UDP-Anteil mit der zunehmenden TM und der Proteinabbau war reduziert (Edmunds 2012).

Tabelle 4: Einfluss der Trockenmasse-(TM)-Gehalte und der Welkzeit auf die Gehalte an umsetzbarer Energie (ME)

TM-Stufe	Trocknungsbedingungen	TM %	Welkzeit Stunden	Rohprotein g/kg TM	ME MJ/kg TM
20 %	Sonne	19	3	188	11,0
	Schatten	19	5	189	11,2
35 %	Sonne	38	7	189	11,2
	Schatten	37	31	191	10,8
50 %	Sonne	50	9	186	10,8
	Schatten	47	33	195	10,8
65 %	Sonne	69	26	179	10,1
	Schatten	67	50	191	10,0

Der Effekt des TM-Gehaltes steht in Übereinstimmung mit Arbeiten von Lebzién und Gaedeken (1996). Die schnellere Trocknung führt grundsätzlich zu besseren Ergebnissen. Im Sinne der Proteinqualität ist daher eine schnelle Silierung anzustreben. Für den optimalen Anwelkgrad gibt es verschiedene Gesichtspunkte, die es zu beachten gilt. Der NEL-Gehalt fällt mit zunehmender TM, das Nacherwärmungsrisiko steigt, aber auch der Proteinwert nimmt zu.

Für die Beratung ergeben sich folgende Empfehlungen zur Silierung, um den Eiweißabbau in der Grassilage zu reduzieren (Spiekers und Edmunds 2012):

- kurze Feldliegezeiten und Anwelkgrad von: 35-40 % TM; Häcksellänge: < 4 cm
- schneller und konsequenter Sauerstoffabschluss nach der Silobefüllung
- schnelle pH-Wert-Absenkung: passender Vergärbarkeitskoeffizient (VK) und Unterstützung durch Siliermittel (Milchsäurebakterienprodukte bei TM > 25; chemische Siliermittel bei TM < 25 %)
- Fehlgärung vermeiden! Buttersäure-freie Silagen erzeugen (wenig Schmutz)
- Nacherwärmung vermeiden!

Die dargestellten Untersuchungs- und Versuchsergebnisse zeigen, dass beim Proteinwert der Grasprodukte erhebliche Möglichkeiten zur Optimierung bestehen. Folgendes Fazit ist festzuhalten:

- Im Frischgras ist der Proteinwert wohl höher als bisher unterstellt;
- Bei Heu und Cobs ergeben sich höhere nXP-Werte durch die Trocknung;
- Bei Grassilage steht die Minderung des Proteinab- und -umbaus während der Silierung im Vordergrund. Ansatzpunkte liegen bei kurzen Feldliegezeiten und einem verbesserten Silage-management;
- Die Bandbreite der nXP-Werte ist sehr groß; dies erfordert eine genauere Abschätzung für die Fütterungspraxis.

Kraftfuttermittel

Für Kraftfuttermittel gilt grundsätzlich das Gleiche wie zuvor schon für Grünlandaufwüchse ausgeführt, dass nämlich eine große Variabilität der Proteinwerte existiert. Zur Bewertung des Potenzials der Kraftfuttermittel in N-reduzierten Rationen für Milchkühe ist neben dem Maßstab der Futter-NNE wegen der erheblichen Importe insbesondere von Proteinfuttermitteln von Bedeutung, auch andere Systemgrenzen zu betrachten, also neben der Futter-NNE auch die Gesamteffizienz der Erzeugung und Verwertung zu erfassen und zu bewerten. Zusätzlich erschwert wird eine realistische Bewertung von Futtermitteln wie Erbsen und Lupinen dadurch, dass sie zwar sehr gut als kombinierte Protein- und Energiefuttermittel ohne oder auch nach gezielter technischer Behandlung auch bei hochproduktiven Milchkühen eingesetzt werden können (z. B. Froidmont und Bartiaux-Thill 2004; UFOP 2007; Boguhn et al. 2008), ihre Verfügbarkeit aber durch die gegenüber anderen Ackerkulturen wie Getreide und Raps niedrigen Erträge so gering ist, dass ihr großes Potenzial der innerbetrieblichen N-Nutzung nicht einmal ansatzweise ausgeschöpft werden kann. Dennoch ist im Zusammenhang mit einer N-reduzierten Fütterung besonders das Potenzial der Körnerleguminosen und der Rapsfuttermittel hervorzuheben. Aufgrund der andauernden Diskussion über den Einsatz gentechnisch veränderter Pflanzen ist das Interesse an heimischen Eiweißfuttermitteln neu geweckt worden. Die Körnerleguminosen Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen finden dabei als potenzieller Ersatz vor allem für Soja- aber auch Raps-extraktionsschrot zunehmend Beachtung. Außerdem sind sie im Ackerbau aufgrund ihres Vorfruchtwertes und phytosanitärer Effekte wichtige Glieder einer ausgewogenen Fruchtfolge. Körnerleguminosen weisen jedoch eine hohe Abbaubarkeit der Nährstoffe, besonders des Rohproteins, im Pansen und somit relativ geringe nXP-Gehalte und UDP-Anteile sowie hohe RNB-Werte auf, die bei höheren Milchleistungen einsatzbeschränkend wirken können. Daher werden chemische und physikalische Behandlungsverfahren, die zu einer Verringerung des ruminalen Abbaus und somit zu einem Anstieg des nXP-Gehaltes führen, zunehmend diskutiert. Gängige Behandlungsverfahren und deren Einfluss auf den Gehalt an UDP sowie neuere Untersuchungsergebnisse über den Einsatz unterschiedlich behandelter Körnerleguminosen in der Milchviehfütterung wurden vor einiger Zeit in einer umfassenden Schrift dargestellt und es wurden Empfehlungen zum Einsatz abgeleitet (UFOP 2007). Für Rapsextraktionsschrot kann mittlerweile davon ausgegangen werden, dass es rohproteinäquivalent gegen Sojaextraktionsschrot ausgetauscht werden kann, ohne weitere Merkmale berücksichtigen zu müssen (Südekum 2008; Huhtanen et al. 2011), womit bei Milchkühen ein erhebliches Potenzial einer insgesamt verbesserten N- und auch Energie-Nutzungseffizienz besteht, dass bisher nur ansatzweise ausgeschöpft wird.

Schlussfolgerungen

Grob- und Kraftfuttermittel haben ein erhebliches Potenzial, um im Rahmen einer N-reduzierten Fütterung zu einer Verbesserung der N-Nutzungseffizienz der Erzeugung von Milch als Lebensmittel tierischer Herkunft beizutragen. Neben einer konsequenteren Nutzung vorhandenen Wissens erscheint insbesondere bei Grobfuttermitteln neben einer noch besseren Qualität der Futtermittelernte und -konservierung die Ermittlung des Proteinwertes im Rahmen der routinemäßigen Futtermitteluntersuchung ein wichtiger Baustein hin zu einer effizienteren Ressourcennutzung zu sein.

Literatur

- Arriaga, H., Pinto, M., Calsamiglia, S. und Merino, P. (2009): Nutritional and management strategies on nitrogen and phosphorus use efficiency of lactating dairy cattle on commercial farms: An environmental perspective. *J. Dairy Sci.* 92, 204-215
- Boguhn, J., Kluth, H., Bulang, M., Engelhard, T., Spilke, J. und Rodehutschord, M. (2008): Effects of using thermally treated lupins instead of soybean meal and rapeseed meal in total mixed rations on *in vitro* microbial yield and performance of dairy cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 92, 694-704

- Chase, L.E. (2003): Nitrogen utilization in dairy cows – what are the limits of efficiency? In: Proc. Cornell Nutr. Conf., Syracuse, NY, USA, pp. 233-244
- Edmunds, B. (2012): Optimising nitrogen use in dairy farming: Evaluation of ruminal crude protein degradation and protein value of forages. Dissertation, Landwirtsch. Fakultät, Universität Bonn
- Flachowsky, G., Brade, W., Feil, A., Kamphues, J., Meyer, U. und Zehetmeier, M. (2011): Carbon (CO₂)-footprints bei der Erzeugung von Lebensmitteln tierischer Herkunft. Übers. Tierernährg. 39, 1-45
- Froidmont, E., Bartiaux-Thill, N. (2004): Suitability of lupin and pea seeds as a substitute for soybean meal in high-producing dairy cow feed. Anim. Res. 53, 475-487
- Givens, D.I. und Rulquin, H. (2004): Utilisation by ruminants of nitrogen compounds in silage-based diets. Anim. Feed Sci. Technol. 114,1-18
- Hoedtke, S., Gabel, M. und Zeyner, A. (2010): Der Proteinabbau im Futter während der Silierung und Veränderungen in der Zusammensetzung der Rohproteinfraktionen. Übers. Tierernährg. 38, 157-179
- Huhtanen, P. und Hristov, A.N. (2009): A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. J. Dairy Sci. 92, 3222-3232
- Huhtanen, P., Hetta, M., Swensson, C. (2011): Evaluation of canola meal as a protein supplement for dairy cows: A review and a meta-analysis. Can. J. Anim. Sci. 91, 529-543
- Huhtanen, P., Südekum, K.-H., Nousiainen, J. und Shingfield, K.J. (2010): Forage conservation, feeding value and milk quality. In: H. Schnyder, J. Isselstein, F. Taube, K. Auerswald, J. Schellberg, M. Wachendorf, A. Herrmann, M. Gierus, N. Wrage und A. Hopkins, Hrsg. Grassland in a Changing World. Grassland Science in Europe 15, 379-400
- Lebzien, P. und Gädeken, D. (1996): Untersuchungen zum Einfluss des Trockensubstanzgehaltes von Grassilage auf die Abbaubarkeit des Rohproteins im Pansen. Landbauforsch. Völkenrode 46, 169-173
- Powell, J.M., Gourley, C.J.P., Rotz, C.A. und Weaver, D.M. (2010): Nitrogen use efficiency: A potential performance indicator and policy tool for dairy farms. Environ. Sci. Policy 13, 217-228
- Speikers, H. und Edmunds, B. (2012): Eiweiß aus Grasprodukten für die Milchkuh besser nutzen. Milchpraxis.. (im Druck)
- Steingäß, H. (2010): Milch vom Grünland – Leistungspotenziale und Fütterungsstrategien
- Steingäß, H. (2010): Milch vom Grünland – Leistungspotenziale und Fütterungsstrategien. VDLUFA-Schriftenreihe 66, Kongressband 2010, 56-65
- Südekum, K.-H. (2008): Co-products from biodiesel production. In: P.C. Garnsworthy und J. Wiseman, Hrsg. Recent Advances in Animal Nutrition – 2007. Nottingham University Press, Nottingham, 201-219
- Südekum, K.-H. (2009): Mais und Maisnebenprodukte und ihre Bedeutung für die Protein- und Aminosäurenversorgung von Wiederkäuern und Nicht-Wiederkäuern. In: F.J. Schwarz und U. Meyer, Hrsg. Optimierung des Futterwertes von Mais und Maisprodukten. Landbauforsch. – vTI Agric. For. Res. Sdrh. 331, 19-27
- Südekum, K.-H. (2010): Perspektiven für die Proteinbewertung und die praktische Proteinversorgung bei Wiederkäuern. In: K. Schedle, M. Kraft und W. Windisch, Hrsg. 9. BOKU-Symp. Tierernährung – Eiweiß in der modernen Tierernährung: Bedarf, Qualität, neue (alte) Futtermittel, 37-43
- UFOP (2007): Heimische Körnerleguminosen mit geschütztem Protein in der Milchviehfütterung. UFOP-Schriften 33. UFOP, Berlin

Autorenanschrift

Prof. Dr. Karl-Heinz Südekum
Institut für Tierwissenschaften
Universität Bonn
Endenicher Allee 15
53115 Bonn
E-Mail: ksue@itw.uni-bonn.de

Optimierung der Stickstoffeffizienz aus physiologischer Sicht beim Monogaster

Gerhard Breves

Physiologisches Institut, Tierärztliche Hochschule Hannover

Einleitung

Während in der Vergangenheit bei der tierischen Veredlung vor allem ökonomische Aspekte in der Erzeugung von Lebensmitteln tierischen Ursprungs im Vordergrund standen, sind in den letzten 20-30 Jahren vor allem in Regionen mit hoher Tierdichte die Themen der Umweltverträglichkeit in der Nutztierhaltung in den Mittelpunkt zahlreicher Studien getreten. Dies betrifft in erster Linie die Elemente N und P, schließt jedoch auch weitere Mengenelemente wie Kalium oder Spurenelemente wie z. B. Zink und Kupfer ein. Da als Ansatz zur Einschränkung der Ausscheidung umweltrelevanter Stoffe aus der Nutztierhaltung eine Reduktion der Erzeugung von Lebensmitteln tierischen Ursprungs angesichts des weltweit steigenden Bedarfs an Lebensmitteln nur wenig sinnvoll ist, muss es das Ziel der umweltverträglichen Tierproduktion sein, bei optimalem Ansatz die Ausscheidung umweltrelevanter Elemente zu minimieren und auf diese Weise maximale Effizienzsteigerungen in der tierischen Veredlung zu erreichen (Spiekers & Pfeffer 1991).

Die möglichst genaue Kenntnis der ernährungsphysiologischen Merkmale der Stickstoffumsetzungen ist eine wesentliche Voraussetzung zum Erreichen maximaler Effizienzsteigerungen. Daher wird zunächst der gegenwärtige Kenntnisstand der gastrointestinalen N-Umsetzungen erläutert, um dann Konzepte, deren Umsetzung zu Effizienzsteigerungen beitragen, darzustellen. Aufgrund des umfangreicheren Datenmaterials vom Schwein werden die gegenwärtigen Konzepte vor allem für diese Spezies dargestellt.

Proteinverdauung und Absorption von Aminosäuren und Di-/Tripeptiden

Grundlage der intestinalen Proteinverdauung ist die Hydrolyse durch pankreatische Proteasen in Kombination mit der Wirkung der membranständigen Peptidasen. Endprodukte dieser Prozesse sind freie Aminosäuren und Oligopeptide (Adibi 1976). Trotz Zunahme des Kenntnisstandes ist das Spektrum der verschiedenen Aminosäuretransportsysteme für den porcinen Darm nicht im Detail charakterisiert sondern wird aus Studien an anderen monogastrischen Tieren oder an Zellkulturen auf das Schwein übertragen. Neben dem intestinalen Transport repräsentiert der Darm einen wichtigen Ort für den Metabolismus von Aminosäuren bzw. Di-/Tripeptiden. Dies wurde für Glutamin, Arginin, Prolin u. a. gezeigt. Sie sind damit trophische Faktoren für die intestinale Mukosa ebenso wie Vorläufer für Syntheseprodukte des Darms wie z. B. Glutathion, NO, Polyamine sowie weitere Substanzen. Damit stellt der Gastrointestinaltrakt einen integralen Teil im Gesamtstoffwechsel von Protein und Aminosäuren dar. Grundsätzlich können Aminosäuren parazellulär oder transzellulär absorbiert werden, wobei beim transzellulären Transport zwischen passivem und Carrier-vermitteltem Transport zu differenzieren ist, zu dem sowohl aktive Prozesse wie auch die erleichterte Diffusion zu zählen sind (Barker & Ellory 1990). Die aktiven Prozesse sind als steuerbare Mechanismen vor allem bei abnehmenden intestinalen Substratkonzentrationen von Bedeutung. Am Transport über Carrier-vermittelte Mechanismen sind verschiedenen Na^+ -abhängige und Na^+ -unabhängige Transportproteine beteiligt, die sich hinsichtlich ihrer Substratspezifität überlappen. Sie sind als Transporter für neutrale, kationische und anionische

Aminosäuren zu differenzieren. Obwohl auf Ebene der Genexpression zahlreiche spezifische Systeme identifiziert sind, fehlt insbesondere beim Schwein in vielen Fällen der entsprechende Nachweis auf Proteinebene.

Mittlerweile wurde nachgewiesen, dass neben dem Aminosäuretransport auch Di- bzw. Tripeptide, die aus dem Abbau von Nahrungsproteinen stammen, über die apikale Enterozytenmembran mittels eines elektrogenen H⁺/Peptid-Symporters aufgenommen werden können (Daniel 2004). Für das Schwein wurden erstmals von Winckler et al. (1999) gezeigt, dass dieses System auch im porcinen Darm vorkommt. Nach Aufnahme der Di-/Tripeptide in die Enterozyten kann die Spaltung in freie Aminosäuren erfolgen, die dann über basolateral lokalisierte Efflux-Systeme ausgeschleust werden können (Ray et al. 2002).

Strategien zur Verbesserung der Stickstoffeffizienz

Bereits vor mehr als 20 Jahren sind durch die experimentelle Forschung in der Ernährungsphysiologie entscheidende Grundlagen geschaffen worden, um in Kenntnis exakter Bedarfszahlen Strategien zu entwickeln, die zu effektiven Verminderungen der N-Ausscheidungen bei monogastrischen Tieren führen. So geben bereits Spiekers & Pfeffer (1991) u. a. die Bedarfsermittlung, die Umsetzung der bestehenden Empfehlungen, die Phasenfütterung sowie die Steigerung der Verwertbarkeit der im Futter enthaltenen N-Verbindungen als wirkungsvolle Ansätze an, die zur Reduktion der Stickstoff-Ausscheidung je Einheit Produkt maßgeblich beitragen können. Insbesondere die Etablierung der Phasenfütterung, die den Einsatz von Futtermischungen mit abgestuften Nährstoffgehalten in verschiedenen Phasen der Mast oder der Reproduktion beinhaltet, und der Einsatz synthetischer Aminosäuren konnten maßgeblich dazu beitragen, die N-Ausscheidungen signifikant zu reduzieren. Dabei ist jedoch die hohe Variabilität verschiedener Futtermittelkomponenten zu berücksichtigen, woraus abzuleiten ist, dass ein solches System nur erfolgreich anzuwenden ist, wenn exakte Kenntnisse zu den Bedarfszahlen auf Grundlage der einzelnen Aminosäuren in Verbindung mit entsprechender Analytik der Futtermittelkomponenten vorliegen. Bei den N-Ausscheidungen ist die chemische Form der jeweiligen N-Verbindungen zu berücksichtigen. So kann durch Einsatz mikrobiell fermentierbarer Kohlenhydrate eine N-Fixierung in der mikrobiellen Zellmasse erfolgen und darüber die Ammoniak-Ausscheidung reduziert werden.

Futterzusatzstoffe wie z. B. Enzyme, Pro- oder Prebiotika oder organische Säuren können indirekt zur Reduktion von N-Ausscheidungen beitragen, wenn ihre unmittelbare Wirkung in einer Verbesserung des Futteraufwandes besteht. Zu ihrem Einsatz sind in den letzten Jahren zahlreiche Studien durchgeführt worden, deren quantitative Effekte häufig in einer Größenordnung von nur etwa 5% lagen und deren Reproduzierbarkeit nicht unter allen Haltungsbedingungen möglich war (Rotz 2004).

Aus der Fülle der Einzelmaßnahmen, die zur Minderung der N-Ausscheidung aus der Tierhaltung beitragen können, entwickelt Rotz (2004) ein integratives Gesamt-Konzept, das auf der Grundlage der genauen Kenntnis aller Einzelgrößen und der Anwendung von Computer-gestützten Modellrechnungen die Optimierung des betrieblichen Umganges mit Nährstoffen und Ausscheidungen ermöglichen soll. Derartige Systeme können möglicherweise künftig zu einer weiteren Verbesserung der Nährstoff-Flüsse in der Tierhaltung beitragen.

Literatur

- Adibi, S.A. (1975) Intestinal phase of protein assimilation in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 29, 205-215
- Barker, G. A., Ellory, J. C. (1990) The identification of neutral amino acid transport systems. *Exper. Physiol.* 75, 3-26
- Daniel, H. (2004) Molecular and integrative physiology of intestinal peptide transport. *Ann. Rev. Physiol.* 66, 361-384

Ray, E. C., Avissar, N. E., Sax, H. C. (2002) Growth factor regulation of enterocyte nutrient transport during intestinal adaptation. *Am. J. Surg.* 183, 361-371

Rotz, C. A. (2004) Management to reduce nitrogen losses in animal production. *J. Anim. Sci.* 82 (E. Suppl.), E119-E137

Spiekers, H., Pfeffer, E. (1991) Umweltschonende Ernährung von Schwein und Rind mit Stickstoff und Phosphor. *Übers. Tierernährg* 19, 201-246

Winckler, C., Breves, G., Boll, M., Daniel, H. (1999) Characteristics of dipeptide transport in pig jejunum in vitro. *J. Comp. Physiol. B* 169, 495-500

Autorenanschrift

Prof. Dr. Gerhard Breves
Physiologisches Institut
Tierärztliche Hochschule
Bischofsholer Damm 15/102
D-30173 Hannover

Einfluss von Calcium und Phosphor auf den Stoffwechsel beim Schwein

Annette Liesegang

Vetsuisse Fakultät Zürich

Einleitung

Die Ökologie spielt in der Schweinefütterung eine immer größere Rolle. In der Umwelt kommt Phosphor meist in Form schwerlöslicher Phosphat-Verbindungen vor. Damit wird es häufig zum limitierenden Element für das Pflanzenwachstum, sowohl in Gewässern als auch auf den Böden (Smil, 2000). Mit der Intensivierung der landwirtschaftlichen Produktion kamen vermehrt Kunstdüngemittel zum Einsatz. Sie enthalten, je nach Rezeptur als Nährstoffe, hauptsächlich Stickstoff (N), Phosphor (P) und Kalium (K), welche zu einem großen Teil für ein üppiges Pflanzenwachstum verantwortlich sind. Während N aus der Luft gewonnen wird (Luft enthält 78% N), werden P und K aus Bergwerken gefördert. Die Kaliumreserven sind noch reichlich. Die Phosphorbestände hingegen, welche mit der heutigen Technologie kostendeckend abgebaut werden können, reichen bei gleich bleibendem Abbau noch für die nächsten 80 (Smil, 2000) bzw. 90 (Vaccari, 2009) Jahre. Die Nutzflächen werden mit Kunst- und Stalldünger gedüngt und die Ackerflächen, bedingt durch die Auflockerung der Böden beim Ackerbau, zunehmend erodiert. Dies führt einerseits zu einem vermehrten P-Entzug aus den genutzten Böden (bedingt durch die Ernte), andererseits bei Überdüngung und vermehrter Erosion, zu einer Ansammlung von P in Gewässern. Hohe P-Konzentrationen im Süßwasser (Eutrophierung) ermöglichen unkontrolliertes Wachstum von Algen und Cyanobakterien (Vaccari, 2009). Um den Nährstoffeintrag in die Gewässer durch die Landwirtschaft zu reduzieren, wurden in vielen Ländern unterschiedliche Vorschriften erlassen. Die zulässigen Phosphor- und Stickstoffmengen bemessen sich nach dem Pflanzenbedarf und dem betrieblichen Bewirtschaftungspotential und müssen in einer Nährstoffbilanz dokumentiert werden. In der Nährstoffbilanz werden beim Einsatz von N- und/oder P-reduzierten Futtermitteln in der Schweinemast auch deren Mineralstoffgehalte mitberücksichtigt. Um den Nährstoffeintrag durch Stalldünger in die Böden zu senken und aufgrund der Berücksichtigung der Futtergehalte an P und N bei der Nährstoffbilanz, wurden in den letzten Jahren in der Mastschweinefütterung vermehrt N- und P-reduzierte Futter (NPr-Futter) eingesetzt. Mit der zunehmenden Anzahl Landwirte, welche nach ökologischen Leistungsnormen produzieren, konnte der Phosphoreintrag zumindest in die Schweizer Nutzflächen kontinuierlich gesenkt werden. Im Allgemeinen hat sich die Düngung mit anorganischem P in den Ländern mit hohem Einkommen stabilisiert oder ist, wie in der Schweiz, zurückgegangen. In den armen Ländern liegt der Eintrag in die Felder jedoch meist über dem Bedarf der Kulturen (Smil, 2000) und der überschüssige P gelangt in die Gewässer, mit den geschilderten Folgen.

Pflanzen nehmen P meist in Form von Dihydrogenphosphat (H_2PO_4^-) auf. Anschließend wird es in verschiedenen Stoffwechselwegen weiterverwendet. Neuere Bestrebungen, den P in den Futterpflanzen besser verfügbar zu machen, gehen in Richtung einer Entwicklung von Pflanzen mit stark reduziertem Phytin Gehalt bei möglichst gleichbleibendem Gesamtphosphorgehalt (Raboy et al., 2001), oder Entwicklung transgener Pflanzen, welche selbst eine erhöhte Menge an Phytase produzieren (Brinch-Pedersen et al., 2002). Die in der EU für den Einsatz im Tierfutter zugelassenen Phytasen haben ihre maximale Aktivität bei pH 4.5-5.5 (Simon, 2009). Aufgrund dieser Voraussetzungen beschränkt sich der Aktivitätsbereich auf den Magen und den proximalen Dünndarm bis zur Einmündung des Ductus pancreaticus (Simon, 2009). Eine der seltenen Phytasen mit optimaler Aktivität im neutralen pH-Bereich ist die Bacillus-Phytase (Simon, 2009). Das Problem für den Einsatz in der Praxis ist jedoch, dass man bis jetzt nicht genügend große Enzymmengen dieser Phytase herstellen kann. Ein hoher

Kalziumgehalt im Futter oder ein weites Ca:P-Verhältnis können die Phytaseeffizienz vermindern (Lei et al., 1994). Kalzium (Ca) kann einerseits für die Phytase unzugängliche Komplexe mit dem Phytat bilden oder durch eine Erhöhung des intestinalen pH die Phytaseaktivität hemmen (Sandberg et al., 1993). Andererseits ist das überschüssige Ca im Stande mit den aktiven Bindungsstellen des Enzyms zu konkurrieren. Der Effekt scheint unabhängig von der Phytasekonzentration, aber verstärkt bei niedrigen Konzentrationen des verdaulichen Phosphors aufzutreten (Qian et al., 1996). Auch hohe Phosphorgehalte können dieselbe Wirkung auf die Aktivität des Enzyms haben. Es gibt zahlreiche weitere In-vitro-Untersuchungen, welche die Hemmung diverser Phytasen durch spezifische Metallionen belegen (Rao et al., 2009).

Sowohl Ca als auch P gehören zu den Mengenelementen im Körper. Ihre Funktionen sind weit reichend. Nachfolgend einige Beispiele für die Funktionen des Phosphors im Körper: Beteiligung an Nucleinsäuresynthese, Energiestoffwechsel, Zell-Signaling, Membranintegrität, Muskelfunktion, verschiedenen Enzymaktivitäten, Lipidstoffwechsel und Knochenmineralisation. Für die Homöostase der beiden Elemente spielen der Dünndarm, der Knochen und die Niere eine zentrale Rolle. P wird in Form von anorganischem Phosphat im Dünndarm aktiv und passiv absorbiert (Schröder et al., 1996; Murer et al., 2001; Bohlke et al., 2005). Liu et al. (Liu et al., 2000) wiesen bei Schweinen auch im Dickdarm eine P-Absorption nach. Vieles bezüglich der P-Absorption im Darm ist noch ungeklärt. Für die Absorption des zweiwertigen Anions von Ca ist der Dünndarm relevant. Im oberen Teil geschieht die Absorption aktiv und über den ganzen Dünndarm passiv (Kaune, 1996; Schröder und Breves, 2006). Im Blut werden die Konzentrationen beider Elektrolyte in engen Grenzen konstant gehalten. Für das Ca beträgt der Mittelwert ± 2 SD von 50-100 kg schweren Mastschweinen 2.70 mmol/l ± 0.3 . Die mittlere P-Konzentration liegt bei 2.68 mmol/l ± 0.56 . Die Knochen bilden den Hauptspeicherort der beiden Elemente im Körper. Wie schon oben erwähnt, befinden sich 99 % des Körper-Kalziums und 75-85 % des Körper-Phosphors im Knochen.

Der Ca-Haushalt wird vor allem über die Ca-Aufnahme im Darm reguliert. In der Niere wird nur der nicht-proteingebundene Teil frei filtriert und zwischen 97-99.5 % davon wieder rückresorbiert. Eine hohe Ca-Konzentration im Blut und eine Azidose hemmen die Ca-Rückresorption und es resultiert eine vermehrte Ausscheidung über den Urin (Murer et al., 2001). Für die Regulation des Ca- und P-Stoffwechsels spielen hauptsächlich Parathormon (PTH), Vit D und Calcitonin und für P wahrscheinlich auch verschiedene Phosphatonine eine Rolle (Berndt und Kumar, 2008).

Einfluss auf den Stoffwechsel

In der Schweineproduktion werden immer häufiger Störungen des Ca- und/oder P-Stoffwechsels sowohl während des Wachstums als auch während der Reproduktion beobachtet. Es konnte gezeigt werden, dass die Fütterung einen großen Einfluss auf diese Probleme hat. Liesegang et al (2002) zeigten, dass eine rein vegetarische Ernährung (d.h. ohne Zusätze) bei wachsenden Schweinen zu einem signifikanten Knochenverlust führt. Auch führte eine P-defiziente Fütterung zu einem verstärkten Abbau von Knochen (Liesegang et al. 2002). Interessanterweise zeigten trächtige und laktierende Schweine, dass die Knochenformation zur Geburt hin stark abnimmt, um Ca für die wachsenden Feten und für die Milchbildung bereit zu stellen. Knochen wird in diesem Zeitraum verstärkt abgebaut und es wird deutlich, dass Tiere, welche in der ersten Phase der Trächtigkeit oder bereits während der Aufzucht keine stabilen Knochen aufbauen konnten, in der Laktationsphase oder direkt danach vermehrt Probleme mit schlecht kalzifizierten Knochen aufweisen (Liesegang et al. 2005). Die Folge sind meist spontane Knochenbrüche, wie sie immer wieder in der Praxis in der Schweiz auftreten.

Wird also dem Schwein nicht genügend Ca und/oder P über die Nahrung zugeführt, führen verschiedene Regulationsmechanismen zur Erhaltung der Ca-/P-Konzentration im Blut. Dabei wird die intestinale Absorption gefördert, die Ausscheidung über die Niere gehemmt und die Mobilisation von Ca/P aus dem Knochen gesteigert. Die Absorption über den Darm und die renale Reabsorption werden

durch $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ bzw. Parathormon reguliert. Bei Mäusen wurde auch eine von Vit D unabhängige Steigerung der P-(Re-) Absorption nachgewiesen (Segawa et al., 2004). Sowohl Zellen im Darm als auch in der Niere scheinen P-Konzentrationen selbst detektieren zu können und in der Lage zu sein, auf Veränderungen direkt mit einer Anpassung der P-Transportkapazität zu reagieren (Berndt und Kumar, 2008). Im Knochen wird auch durch $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ ein vermehrter Abbau induziert und dadurch P mobilisiert. Besteht über längere Zeit eine ungenügende P-Zufuhr, nimmt die Knochendichte messbar ab (Carter et al., 1996; Harper et al., 1997; Liesegang et al., 2002a; Liesegang et al., 2005). Im Extremfall, und insbesondere bei wachsenden Tieren mit einem erhöhten Bedarf, kann der Knochen dadurch instabil werden.

Der Stoffwechsel kann über verschiedene Parameter überprüft werden. Eine Möglichkeit besteht darin verschiedene Metaboliten des Knochenaufbaus-oder -abbaus im Blut zu bestimmen, die sogenannten Knochenmarker. Anhand ihrer Konzentrationen im Blut oder Urin kann eine Aussage über die Intensität des Auf- und Abbaus bzw. der Umbauvorgänge im Knochengewebe gemacht werden. Im Unterschied zu anderen Messgrößen erhält man damit einen Einblick in die dynamischen Vorgänge im Knochen, ohne invasiv vorgehen zu müssen. Bei Schweinen konnten Liesegang et al. (Liesegang et al. 2002b) eine gute Korrelation eines Knochenresorptionsmarkers mit der Knochenmineralisation nachweisen. Auch bei Schafen und Ziegen um den Zeitpunkt der ersten Geburt wiesen Liesegang et al. (Liesegang et al., 2006) den Zusammenhang von hohen Knochenresorptionsmarker-Konzentrationen im Blut mit tieferen Knochendichten nach. Frisbie et al. (2010) wiesen bei Pferden nach, dass gewisse Markerkonzentrationsmuster im Blut typisch waren für eine spätere Erkrankung des Bewegungsapparats. Die Markerkonzentrationen geben hingegen keinen Aufschluss über den genauen Ort (Lokalisation im Körper, Spongiosa/Kompakta, intakter/frakturierter Knochen) der Umbauvorgänge (Withold, 1996). Eine weitere Einschränkung der Aussagekraft von einigen Knochenmarkern ergibt sich durch die geringe Spezifität, d.h. die meisten Marker entstehen im Körper nicht nur bei Umbauvorgängen im Knochen, sondern auch in anderen Geweben. Bei der Interpretation der Werte müssen Alter, Geschlecht, Nahrung, physische Belastung, Krankheiten, Leber-, Nierenfunktion sowie die tageszeitlichen und saisonalen Schwankungen immer mit berücksichtigt werden (Schönau und Rauch, 1997; Woitge et al., 1998; Watts, 1999). Die Knochenmarker gelten in der Veterinärmedizin als geeignetes Instrument, den Knochenstoffwechsel von verschiedenen Tierarten zu überwachen (Liesegang, 2000, 2003). Allerdings ist es wichtig, dass die Marker tageszeitlichen Schwankungen unterstehen, d.h. die Blutentnahmen müssen standardisiert immer zur gleichen Zeit entnommen werden, was unter Praxisbedingungen zu Einschränkungen in der Anwendbarkeit führt.

Um die tägliche Knochenresorption zu ermitteln, erarbeiteten Bollen et al. 1997 eine Methode. Diese Untersuchung erfolgte mit fünf vier Monate alten Minipigs, welche einen Monat lang jeden zweiten Tag für 24 Stunden in einem Stoffwechsellkäfig gehalten wurden. So wurden Urinproben gesammelt, in welchen aminoterminalen Telopeptide des Typ I Kollagens (NTX) nachgewiesen wurden. NTX wird bei der Knochenresorption durch Osteoklasten freigesetzt. Die Skelettmasse wurde anhand der Formel von Elowsson und Carlsten (1997) ermittelt. Die Resultate zeigten bei gesunden Tieren, dass durchschnittlich alle 24 Stunden 1.4 % der Skelettmasse resorbiert werden. Es ist klar ersichtlich, dass Tiere, welche auch nur einen geringen Mangel an Mineralstoffen haben, noch schneller Knochen abbauen, um die Kalziumhomöostase aufrechterhalten zu können. Ein weiteres diagnostisches Mittel ist die Messung der Knochendichte mittels der peripheren Computertomographie (Abbildung 1).

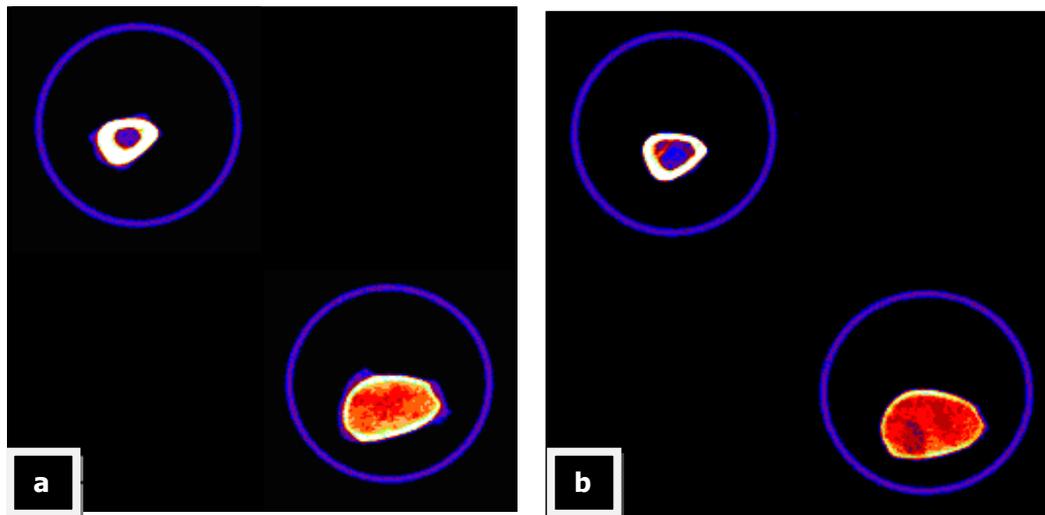


Abbildung 1: Computertomographische Darstellung von Knochen eines Schweines; a = normales wachsendes Schwein; b = Schwein, welches P-defizient gefüttert wurde; Obere Bilder: Mitte Diaphyse; untere Bilder: Distal am Knochen. Je weisser die Bezirke, desto stärker mineralisiert, rechte Bilder zeigen dünnere Knochen; rot = Schwammknochen

Schlussfolgerungen

Die Mineralstoffversorgung des Schweines hat aufgrund der für die Umwelt notwendigen Reduktion der Mineralgehalte im Futter einen immer grösser werdenden Einfluss auf die Knochengesundheit von Schweinen. Ein möglicher Zusammenhang mit vermehrt auftretenden Lahmheiten in der Praxis, gilt es zu kontrollieren und weiter abzuklären.

Bei der Überprüfung der Fütterung in der Praxis wurden bisher einige Rationen beobachtet, welche eine unterhalb der Empfehlung liegende Versorgung mit Calcium und verdaulichem Phosphor aufwiesen. Die berechneten Rationen in der Endmast entsprachen dagegen häufig dem Phosphorbedarf. In der Anfangsmast ist die Versorgung mit Mineralstoffen erniedrigt und bis zum Ende der Mast kann keine maximale Mineralisation und Brechkraft der Knochen erreicht werden. Mit dem Einsatz von Phytase und bei Verfütterung von Schotte konnte unter Reduktion des Gesamtphosphors im Futter in der Praxis eine stärkere Mineralisation der Knochen nachgewiesen werden.

Die verschiedenen Methoden zum Nachweis der Knochengesundheit sind teilweise bedingt einsetzbar unter Praxisbedingungen. Die Methode der Knochendichtemessungen eignet sich sehr gut, um Störungen der Mineralisierung zu erkennen. Nach z.B. der Schlachtung von Schweinen aus verschiedenen Betrieben ist dies jedoch unproblematisch, um auch festzustellen, ob Probleme im Betrieb auftreten.

Die verschiedenen Knochenmarker werden bisher in der Veterinärmedizin aus verschiedenen Gründen nicht routinemäßig eingesetzt. Zum einem sind die Nachweismethoden sehr teuer und zum anderen sind viele Knochenmarker spezies-spezifisch und nicht alle sind kommerziell erhältlich. Die diagnostischen Möglichkeiten, welche mittels dieser Parameter zur Verfügung stehen könnten, sollten nicht unterschätzt werden. Die einzelnen Nachweismethoden müssen jedoch standardisiert und Normalwerte für die verschiedenen Spezies und die Altersklassen etabliert werden. Erst dann können diese Parameter sinnvoll interpretiert werden.

Literatur

- Bohlke R. A., Thaler R. C., Stein H. H. (2005): Calcium, phosphorus, and amino acid digestibility in low-phytate corn, normal corn, and soybean meal by growing pigs. *J Anim Sci*, 83, 2396-2403
- Brinch-Pedersen H., Sorensen L. D., Holm P. B. (2002): Engineering crop plants: getting a handle on phosphate. *Trends in Plant Science*, 7, 118-125
- Berndt T., Kumar R. (2008): Novel Mechanisms in the Regulation of Phosphorus Homeostasis. *PHYSIOLOGY*, 24, 17-25
- Bohlke R. A., Thaler R. C., Stein H. H. (2005): Calcium, phosphorus, and amino acid digestibility in low-phytate corn, normal corn, and soybean meal by growing pigs. *J Anim Sci*, 83, 2396-403
- Bollen, A.-M., McCulloch, K. J., and Herring, S. W. (1997): Whole body bone resorption in the growing pig. *Growth, Development and Aging*, 61: 181-189
- Carter S. D., Cromwell G. L., Combs T. R., Colombo G., Fanti P. (1996): The determination of serum concentrations of osteocalcin in growing pigs and its relationship to end-measures of bone mineralization. *J Anim Sci*, 74, 2719-29
- Frisbie D. D., Mc Ilwraith C. W., Arthur R. M., Blea J., Baker V. A., Billinghamurst R. C. (2010): Serum biomarker levels for musculoskeletal disease in two- and three-year-old racing Thoroughbred horses: A prospective study of 130 horses. *Equine Vet J*, 42, 643-51
- Harper A. F., Kornegay E. T., Schell T. C. (1997): Phytase supplementation of low-phosphorus growing-finishing pig diets improves performance, phosphorus digestibility, and bone mineralization and reduces phosphorus excretion. *J. Anim. Sci.*, 75, 3174-86
- Kaune R. (1996): Mechanisms of intestinal calcium absorption and availability of dietary calcium in pigs. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 103, 215-8
- Lei X. G., Ku P. K., Miller E. R., Yokoyama M. T., Ullrey D. E. (1994): Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn-soybean meal diets of weanling pigs. *J Anim Sci*, 72, 139-143
- Liesegang A. (2000): Anwendung von Knochenmarkern in der Veterinärmedizin. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 142, 613-23
- Liesegang A., Burgi E., Sassi M. L., Risteli J., Wanner M. (2002a): Influence of a vegetarian diet versus a diet with fishmeal on bone in growing pigs. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine*, 49, 230-238
- Liesegang A., Ursprung R., Gasser J., Sassi M. L., Risteli J., Riond J. L., Wanner M. (2002b): Influence of dietary phosphorus deficiency with or without addition of fumaric acid to a diet in pigs on bone parameters. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 86, 1-16
- Liesegang A. (2003): Possibilities of monitoring bone metabolism in ruminants--an overview of the methods in use. *Acta Vet Scand Suppl*, 97, 23-28
- Liesegang A., Loch L., Burgi E., Risteli J. (2005): Influence of phytase added to a vegetarian diet on bone metabolism in pregnant and lactating sows. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 89, 120-128
- Liesegang A., Risteli J., Wanner M. (2006): The effects of first gestation and lactation on bone metabolism in dairy goats and milk sheep. *Bone*, 38, 794-802
- Liu J., Bollinger D. W., Ledoux D. R., Venum T. L. (2000): Effects of dietary calcium:phosphorus ratios on apparent absorption of calcium and phosphorus in the small intestine, cecum, and colon of pigs. *J Anim Sci*, 78, 106-109
- Murer H., Hernando N., Forster I., Biber J. (2001): Molecular mechanisms in proximal tubular and small intestinal phosphate reabsorption (Plenary Lecture). *Molecular Membrane Biology*, 18, 3-11
- Qian H., Kornegay E. T., Conner D. E., Jr. (1996): Adverse effects of wide calcium:phosphorus ratios on supplemental phytase efficacy for weanling pigs fed two dietary phosphorus levels. *J Anim Sci*, 74, 1288-97
- Raboy V., Young K. A., Dorsch J. A., Cook A. (2001): Genetics and breeding of seed phosphorus and phytic acid. *Journal of Plant Physiology*, 158, 489-497.
- Rao D. E., Rao K. V., Reddy T. P., Reddy V. D. (2009): Molecular characterization, physicochemical properties, known and potential applications of phytases: An overview. *Crit Rev Biotechnol*, 29, 182-98
- Sandberg A. S., Larsen T., Sandstrom B. (1993): High Dietary Calcium Level Decreases Colonic Phytate Degradation in Pigs Fed a Rapeseed Diet. *Journal of Nutrition*, 123, 559-566
- Schönau E., Rauch F. (1997): Markers of bone and collagen metabolism-problems and perspectives in paediatrics. *Horm Res*, 48 Suppl 5, 50-9.

Schröder B., Breves G., Rodehutschord M. (1996): Mechanisms of intestinal phosphorus absorption and availability of dietary phosphorus in pigs. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 103, 209-14

Schröder B., Breves G. (2006): Mechanisms and regulation of calcium absorption from the gastrointestinal tract in pigs and ruminants: comparative aspects with special emphasis on hypocalcemia in dairy cows. *Anim Health Res Rev*, 7, 31-41

Segawa H., Kaneko I., Yamanaka S., Ito M., Kuwahata M., Inoue Y., Kato S., Miyamoto K. (2004): Intestinal Na-P-i cotransporter adaptation to dietary P-i content in vitamin D receptor null mice. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 287, F39-F47

Simon O. (2009): Phytasen – Ansätze zur Verbesserung der Wirksamkeit. *Schriftenreihe aus dem Institut für Nutztierwissenschaften der ETH Zürich*, 32, 87-98

Smil V. (2000): Phosphorus in the environment: Natural flows and human interferences. *Annual Review of Energy and the Environment*, 25, 53-88

Vaccari D. A. (2009): Droht ein Mangel an Phosphor? aus: *Spektrum der Wissenschaft*, 9, 78-83

Watts N. B. (1999): Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clin Chem*, 45, 1359-68

Withold W. (1996): Monitoring of bone turnover biological, preanalytical and technical criteria in the assessment of biochemical markers. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 34, 785-99

Woitge H. W., Scheidt-Nave C., Kissling C., Leidig-Bruckner G., Meyer K., Grauer A., Scharla S. H., Ziegler R., Seibel M. J. (1998): Seasonal variation of biochemical indexes of bone turnover: results of a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab*, 83, 68-75

Autorenanschrift

PD Dr. Annette Liesegang, Dipl ECVCN, Dipl IVAS
Head of Institute
Institute of Animal Nutrition, Vetsuisse Faculty Zurich
Winterthurerstrasse 260
CH-8057 Zürich
E-Mail: aliese@vetphys.uzh.ch

Cattle production and its key role in sustainable food security and safety

Ratchaneewan Khiaosa-ard, Christine Iben and Qendrim Zebeli

Institute of Animal Nutrition, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria

Introduction

Livestock production is an important part in the food-chain system. It contributes 40% of the global agricultural output value and supports the livelihoods and food security of almost a billion people (FAO, 2009). The world's population continues to increase and demand for food is rising as well (FAO, 2009). The demographic change with urbanization and income growth will lead to more demand of livestock and fish products and higher per capita consumption of calories (Harrington and Hobbs, 2005). In spite of the increase of animal source food demand, there are limitations in natural resources such land and water which are essential for livestock production and animal feed production. Hence, to ensure food security an improvement in animal production efficiency is essential. In this context, in the past 40-50 years there has been a success in livestock production (Oltjen and Beckert, 1996; Hume et al., 2011). For example, on average dairy cattle now produce 67% more milk than before (Hume et al., 2011). However, recently food safety and quality has become an issue too. Intensive animal production systems often raise public criticism for their unfavorable effects on the environment, animal welfare, and food safety (Sørensen et al., 2006). Moreover, consumers have negative perceptions of animal origin products, especially those of ruminants, in terms of nutrition and health aspects because of their cholesterol and fat contents and proportionally high contents of saturated fatty acids. This contributed to the decline in consumption of milk and cream in recent years (Dewhurst, 2005). As a consequence, nowadays animal nutritionists and animal nutrition science in general have been faced to multiple and more complicated challenges for innovations to achieve sustainable improvement in animal productivity without negative consequences on animal health, and at the same time to improve safety and quality of the animal products. Achieving such goals is very challenging because there appears to be conflicts or trade-offs between these goals. For instance, high milk production in dairy cattle is negatively associated to health and fertility traits in cows (Oltenucu and Algers, 2005; Ametaj et al., 2010a), although this could depend on the herd environment (Windig et al., 2006). Further, pathogenic bacteria and their toxins are regarded as a major issue of food safety. It appears that high-grain diets can maximize growth efficiency of animals but some grains like barley can induce inflammation (Ametaj et al., 2009), and can increase shedding of pathogenic bacteria *E. coli*/O157:H7 (Dargatz et al., 1997). Nevertheless, advances done during the last years including the development of more sensible and high-throughput analytical methods (Ametaj et al. 2010a), and also a better understanding of the role of nutrition on animal health, efficiency, and food quality may open opportunities for animal nutritionists to bundle their research efforts with other relevant areas along the food-food chain. This is generally aimed at alleviating such conflicts of the goals in order to satisfy both security and safety of animal source foods. With this concept, the present review article will focus on several innovations and expanded knowledge in the field of cattle production, which have been introduced in current years. The first section of this article illustrates the development in the issues of global food security and safety over the past years. The second part emphasizes the improvement in cattle production, both past success and future trends, based on scientific findings and its considerable role in food security and food safety issues. Last but not least, this article concludes

the critical role that feeding of ruminants plays on gut health and metabolism, as well as on subsequent production efficiency, food quality and safety.

Ruminants and food security and safety issues – from pure food security to combined food security and safety

Ruminants have traditionally played a unique role in agricultural and food systems, and hence in food security worldwide. This is because of the fact that ruminants - as opposed by monogastric animals - are able to convert largely non edible, fiber-rich feedstuffs into nutritionally valuable food for humans, most importantly into protein, fat (energy), minerals, and vitamin sources. Nowadays this role is particularly important both in countries where pastures are the main feed habitats of ruminants, but also in those regions of the world where there is a lack of grain availability for human consumption. Milk, meat and their products are the main sources of nutrients in the diets of humans worldwide. Like meat, milk also contains not only a fantastic and highly bioavailable amino acid profile coupled with a high content of multiple vitamins and minerals, but milk is also rich in other health-promoting substances including bioactive peptides and conjugated linolenic acids, as well as in omega-3 fatty acids (Park, 2009), which make milk an indispensable food particularly for young and elderly people. Indeed, milk and meat products are an essential part of the balanced and healthy diet for most part of the world. As an example, data from Robert-Koch-Institute indicate that milk and meat products alone contribute to meet more than 40% of the requirements of proteins, fat (energy), and calcium of the German population (Mensink et al., 2002).

Perception and public awareness to food security and safety issues has changed tremendously over the past decades. In fact, evidences of food control date back in the medieval times, whereby the authorities proved the "substantial composition" of food (Sperlich, 1980). In the 17th century physicians were in charge of investigating animals before slaughtering, whereas later this role was overtaken by veterinarians (Theves, 2002; Schlüter, 2006). Although food poisoning has been recognized as a disease since as early as Hippocrates, and in the Middle Ages connections between food and diseases have been reported, e.g. ergotism (Matoissian, 1989), food borne diseases were first identified only in the 19th century (Theves, 2002; Schlüter, 2006).

Food safety has become a very sensible issue recently. As illustrated in Figure 1, while in Europe due to hunger and malnutrition food supply was an existential issue during the years and immediately after of the World War II, food safety became increasingly important starting in the seventies. During this period, food safety coincided with oversupply of food and was accelerated by the explosion of several crises in the food chain such as dioxin in eggs and, most importantly, later also the bovine spongiform encephalopathy (BSE). For the sake of this article, it should be mentioned that BSE and other scandals of food chain sector were not only related with enormous economic losses of the ruminant production, they also strongly affected the credibility of the food of animal origins, and apparently led to a higher response, in a coordinated level, of policy making public authorities. Obviously, food safety issue has received more and more attention from several authorities in the food chain system and has subsequently become a public interest, thus emphasizing that food safety is a highly sensible issue. An example of this attention is not only establishment of agencies for monitoring food safety at national levels across Europe, but also foundation of the European Food Safety Authority (EFSA) on 2002 at a coordinated European level.

Although food safety and security are big issues worldwide, food security of this century is not the same as food security of the fifties of the last century. As illustrated in the Figure 1, consumers nowadays expect not only sufficient and nutritious meat, milk and their products, but also an affordable, and, most importantly, safe and well balanced products from the nutritional point of view. According to the World Food Summit (1996), food security is defined as: "all people, at all times, must have physical and economic access to sufficient safe and nutritious food that meets their dietary needs and

food preferences for an active and healthy life". This indicates an increasing challenge to provide sufficient and healthy meat and milk products, whereby meeting energy and nutrient requirements of cattle while avoiding digestive and systemic metabolic disturbances is critical to ensure that meat and milk is produced from healthy animals in an efficient and cost-effective manner (Zebeli et al., 2010; Zebeli and Metzler-Zebeli, 2012). This will require intensive and bundled research efforts of all active players along the feed-food chain as well as a better awareness within the retailers and consumers. Some aspects concerning the pre-harvest food security, quality, and safety with special focus of domestic ruminants are given the next sections of this article.

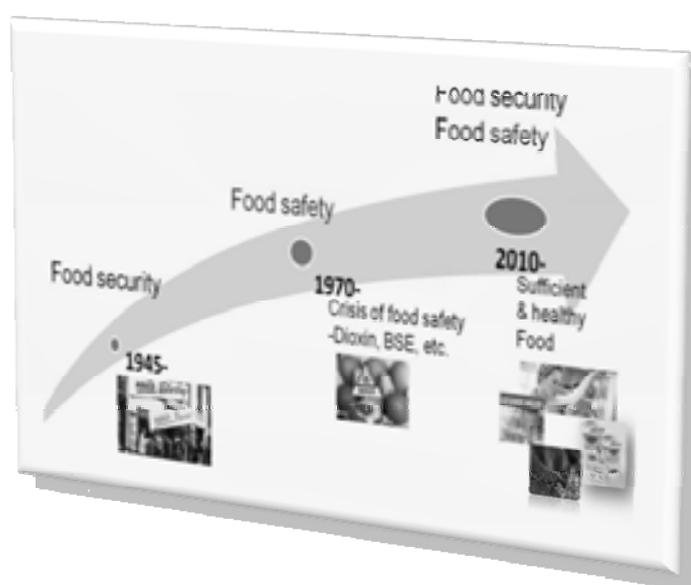


Figure 1: Description of the developments in issues of food security and safety over the past 60-70 years in Europe (adapted from World Food Summit, 1996; Flachowsky and Gabel, 2003).

Modulating rumen metabolism to enhance production efficiency and food safety and quality

1. Lowering *E. coli* shedding, improving food safety

The intensive management systems of cattle and small ruminants encourage dietary inclusion of large amounts of cereal grains or easily degradable by-products to support high milk yields or rapid weight gains (Zebeli and Metzler-Zebeli, 2012). Although these feeding practices seem to enhance production in a short-term, they do not cope with cattle's digestive physiology (Ametaj et al., 2010b). The most important consequence thereof is the impaired ecosystem of the gastrointestinal tract with major consequences for gut and also systemic host health (Zebeli et al., 2011; Zebeli and Metzler-Zebeli, 2012). Apparently healthy animals suffering from sub-clinic and chronic disorders have lower production efficiency (Zebeli and Metzler-Zebeli, 2012). Moreover, a poor health status is not only responsible for greater susceptibility of other diseases, but also these animals have a higher likelihood to serve as a reservoir and spread pathogens. According to the estimation of Centers for Disease Control and Prevention (CDC), in 2009 over 100,000 illnesses were caused by Shiga toxin-producing *E. coli* (both O157 and non O157) in the United States (Gould, 2009). In Europe 3,744 cases of Shiga toxin-producing *E. coli* O104:H4 have been reported within 2 months since the start of the outbreak in May 2011 (ECDC, 2011). Many pathogenic bacteria, such as *E. coli* O157:H7, are confined to the gastroin-

testinal tract of cattle, and the cattle remain non-symptomatic while shedding these pathogenic bacteria into the environment (Gansheroff and O'Brien 2000). According to Callaway et al. (2009), approximately 30% of feedlot cattle shed *E. coli* O157:H7. Thus, for many years the focus on improving the safety of meat products has been laid on post slaughter managements, including antimicrobial treatment and HACCP in slaughter plants. However, the illness due to consumption of contaminated meat products still remains. As a consequence, recently there has been a great interest in finding strategies to reduce the pathogenic microbial population in living animal before slaughter. These pre-harvest intervention strategies include dietary and management strategies as well as probacterial and antipathogenic strategies (Callaway et al., 2004).

Management practices can affect the *E. coli* O157:H7 shedding level in cattle. Cray et al. (1998) showed that dietary stress led to an increase in *E. coli* O157:H7 shedding of calves and the diet-stressed calves were more susceptible to infection by *E. coli* O157:H7 than are well-fed calves. This is because fasting or starvation results in decreased concentration of gut volatile fatty acids (VFA) which can limit *E. coli* O157:H7 (Callaway et al., 2004). Diet composition can affect *E. coli* shedding in cattle too. It appeared that grain-fed cattle had higher *E. coli* population than in forage-fed cattle, however depending on the grain type (Callaway et al., 2009). Abruptly switching from high-grain diets to hay diet could induce *E. coli* O157:H7-negative animals (Keen et al., 1999). However, long-term forage feeding showed no promising result (Van Baale et al., 2004). In addition to dietary effects, animal physiology and management seems to play a role. For instance, the study of Fitzgerald et al. (2003) indicated that lactating cows had higher *E. coli* O157:H7 shedding compared to non-lactating cows. Stress could induce cattle to metabolic and infectious diseases and in turn the animals are more susceptible to pathogenic bacteria and subsequent *E. coli* shedding may occur.

The use of high-throughput metabolomic technologies during the recent years has provided interesting insights on bovine gastrointestinal health. Accordingly, the study of Ametaj et al. (2010b) showed that feeding cows with highly degradable diets (e.g. diets rich in barley grain) was associated with a subacute rumen acidosis and major perturbations in the metabolomic profile in the rumen. For example, compared with cows fed 15% grain those fed 60% grain in the diet showed about 14-fold increases of endotoxin, and above 20-fold greater toxic compounds in the rumen fluid such as biogenic amines and N-nitrisodimethylamine (Ametaj et al., 2010b). Since these compounds can be translocated into the bloodstream (Zebeli et al., 2011), it is probable that these toxic compounds might go into the food chain with consequences for food safety, hence emphasizing the major role of nutrition on gut health and subsequently on food safety.

Feeding of fiber-rich diets and the use of probiotics, antibiotics, competitive exclusion, ionophores, bacteriophage and vaccination have been introduced and employed to decrease incidences of food-borne pathogenic bacteria entering the slaughter plants (Callaway et al., 2004). However, more studies are still needed because the outcome of these methods appears to be inconsistent, some methods are impractical, and there are possible negative side effects. For instance, ionophores primarily inhibit gram-positive bacteria but many food borne pathogens including *E. coli* and *Salmonella* are gram-negative and ionophores have no effect on these pathogens (Edrington et al., 2003). Some antibiotics like neomycin could significantly reduce *E. coli* O157:H7 shedding (Ransom and Kelk, 2003), but antimicrobial resistance is concerned.

As mentioned earlier, forage feeding could influence *E. coli* shedding, yet there are inconsistencies found between studies as different forages were used. Callaway et al. (2009), who intensively reviewed dietary effects on *E. coli* shedding in cattle, proposed that some intrinsic factors of forages are responsible, to some extent, to the variable results. The recent study (Berard et al., 2009) showed that feeding phytochemical-rich forage sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) to steers over 9-week period reduced generic *E. coli* number in fresh feces and no adaptation occurred. The mode of action is believed to be via the combined action of phenolic and flavonol glycosides, which have antimicrobial activity. In a good agreement, tannins were shown to have bactericidal effect on *E. coli* O157:H7 in

the earlier *in vitro* studies (Min et al., 2007). To date, number of studies on the effects of plant secondary compounds is still limited and therefore further research is required in order to find promising natural feed additives that can replace the use of traditional antibiotics, which has been banned in the Europe Union.

2. Lowering methane, increasing production efficiency – contribution to food security

Methanogenesis is carried out by rumen methanogens and serves as a major hydrogen sink in the rumen. Methanogens form methane from the major substrates (CO₂ and H₂) derived from nutrient degradation in the rumen. On one hand, methanogenesis helps to prevent the accumulation of H₂, which otherwise can result in a decline in pH and subsequent inhibition of many rumen microorganisms which are essential for nutrient degradation, especially for fiber (Ominski and Wittenberg, 2004). On the other hand, methanogenesis has been estimated to contribute to the loss of 6-10% of gross energy intake or 8-14% of digestible energy intake of ruminants (Cottle et al., 2011). Therefore, mitigating rumen enteric methane without altering overall rumen fermentation is one of the key roles to improve production efficiency in cattle. In addition, the decreased methane emission will also positively contribute to the environment.

Current methane mitigation strategies are consisted of improving nutrition strategies (i.e. concentrate level, forage quality) and rumen modification strategies (defaunation, ionophores, oils, dicarboxylic acids, methane analogues, Iqbal et al., 2008). However, many of these strategies cannot hold promise for long-term effects due to possible microbial adaption. Some methods are costly, while some may harm animal health and limit rumen digestion. Because of these limitations there is a need for new approaches for mitigating methane production in cattle. Iqbal et al. (2008) proposed that integrated research investigating animal, plant, microbe, and nutrient level strategies might offer a long term solution of methane emission in livestock production.

At the animal level, it involves animal genetic selection as a major approach. Variations among cattle in feed efficiency exist. The feed efficiency can be determined by residual feed intake (RFI). Residual feed intake or net feed efficiency is the difference between an animal's actual feed intake and its expected feed requirements for maintenance of body weight and production (growth in beef cattle or milk production in dairy cattle (Arthur et al., 2001). Efficient animals consume less than expected and have low-RFI, while inefficient animals have high-RFI. Residual feed intake has been shown to have moderate heritability and is genetically and phenotypically correlated with feed conversion ratio, indicating that genetic improvement in feed efficiency can be achieved through selection lines for low and high RFI (Arthur et al., 2001). It was shown that low-RFI Angus steers had lower (-40%) dry matter intake than the high-RFI steers to attain the similar average daily gain and thus gain:feed ratio of the low-RFI was drastically lower (Figure 2, Hegarty et al., 2007). Theoretically, efficient animals that consume fewer feeds should produce less methane than do inefficient animals. This has been confirmed by several studies (Okine et al., 2001; Herd et al., 2002; Hegarty et al., 2007). However, the role of methane producers in such difference remains unexplored. By using molecular technology, the recent study (Zhou et al., 2009) was able to reveal the differences in methanogenic communities between efficient and inefficient cattle. In fact, both cattle groups had similar quantities of the methanogens but inefficient cattle had more diverse methanogenic communities and higher prevalence of *Methanosphaera stadtmanae* and *Methanobrevibacter* sp. compared to efficient cattle ones (Figure 2; Zhou et al., 2009). Further, they observed that the differences at the strain and genotype levels were associated with feed efficiency in the host, suggesting that the methanogenic ecology at the species, strain, and/or genotype level in the rumen may play important roles in contributing to the methanogenesis between cattle with different RFI. Besides methanogen community, there appears to be variations in bacterial community in the rumen of animals differing in productivity as well (Hernandez-Sanabria et al., 2011), and particular bacteria phenotype (*Succinivibrio* sp., *Robinsoniella* sp.) contributes to such differences in feed efficiency of host animal.

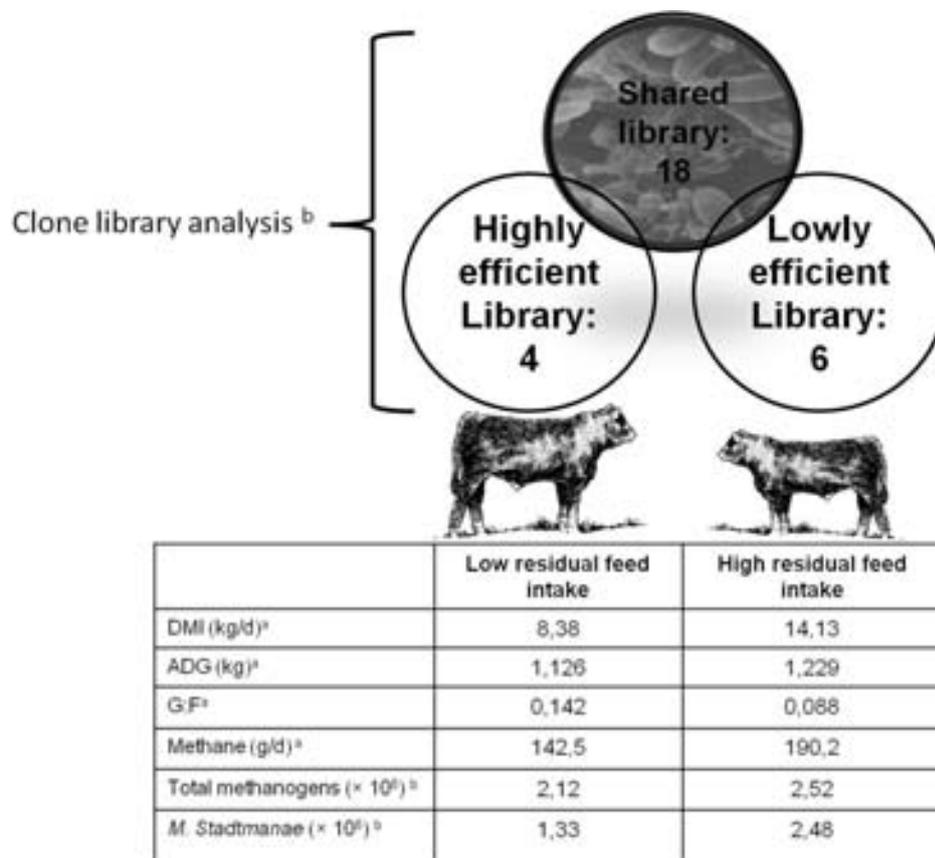


Figure 2: Differences in production efficiency (DMI, dry matter intake; ADG, average daily gain; G:F, gain:feed), methane production and methanogenic communities between cattle with different residual feed intake (Adapted from ^aHegarty et al., 2007; ^bZhou et al., 2009)

At the microbial level, vaccination and probiotics have been shown to be effective, though the results are quite inconsistent and more work is required to confirm their effects (Iqbal et al., 2008). Recently great emphasis has been placed on the investigation of natural plant components which have antimicrobial properties, and thus may decrease methane production in ruminants. Phenols such as tannins can possess a direct inhibition of methanogen number (Bhatta et al., 2009) and/or their activity (Tavendale et al., 2005). Tannins can also indirectly inhibit methane production by reducing H₂ supply for methanogenesis (Khiaosa-Ard et al., 2009) most possibly due to a lower nutrient digestibility (Tiemann et al., 2008). Jayanegara et al. (2011a) reported that all fractions of phenols, i.e. non-tannins, condensed-tannins and hydrolysable tannins, in tropical plants were associated to suppressing methane formation *in vitro*, however not all phenolic fractions of alpine plants showed the positive methane inhibition effect (Jayanegara et al., 2011b). The generally lower phenol contents of the alpine plants compared to the tropical plant ones may explain the unclear effect. Further study from the same group (Jayanegara, 2011) indicated that combining phenol-rich plants with high quality forage plants (low in phenols) could provide additional benefits as the synergistic associative effect was found. Depending on dose and structure, tannins may favorably modulate rumen fermentation such decreasing rumen protein degradation, prevention of bloat and therefore may improve body weight and wool growth, milk yields and reproductive performance (Patra and Saxena, 2011). Other natural additives such as essential oils and their main components have been repeatedly shown to lowering methane formation *in vitro* (Benchaar et al., 2008; Staerfl et al., 2010) but this has not always occurred *in vivo* (Beauchemin and McGinn, 2006). Opposite to tannins, there is a lack of data on effects

of essential oils on animal performance, except for Benchaar et al. (2006) who found no major effect of feeding essential oils on beef cattle performance. Indeed, there are potential ways either at the animal level or the microbial level to mitigate methane production and improve animal feed efficiency. However, as mentioned before, in the future there is the necessity of the integrated research. It can be expected that intensive information regarding identification of specific methanogen and bacterial species associated with host feed efficiency could help to direct to the more efficient and reliable strategies at the microbial level.

3. Increasing health-promoting fatty acids, improving ruminant product quality

Two important groups of polyunsaturated fatty acids (PUFA) are considered in terms of human health, i.e. omega-3 fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA). Omega-3 fatty acids, such as α -linolenic acid (c9,c12,c15-18:3), have been recognized as "desired" fatty acids particularly due to cardiovascular effects of these fatty acids (Simopoulos, 2001; Barcelo-Coblijn and Murphy, 2009). Ratio of omega-6:omega-3 around 4 or lower is associated with reducing the risk of many of chronic diseases (Simopoulos, 2002). Conjugated linoleic acids became of interest since the discovery of their anticarcinogenic properties (Pariza and Ha, 1990). In contrast to PUFA, saturated fatty acids (SFA) are considered "unhealthy" and this led to a negative image of animal products perceived by the consumers and a consequent decline in dairy products (milk and cream) in recent years (Dewhurst, 2005). For many years there has been a focus in livestock production research on producing healthier foods for consumers. The goal is to decrease SFA content and increase PUFA especially of omega-3 fatty acids and CLA in animal source foods.

Among natural-source diets for human, ruminant lipids are the major source of CLA, with rumenic acid (c9,t11-18:2) being a major isomer (Dewhurst, 2005). Furthermore, ruminant products are one of the few regular consumed foods containing the healthy omega-6:omega-3 ratio (Wood et al., 2008). However, in comparison to SFA, these favorable fatty acids are represented only in small proportions, although cattle may consume large amount of PUFA including α -linolenic acid. Such loss of ingested PUFA and the occurrence of CLA begin in the rumen and are caused by a microbial process called biohydrogenation. In addition, it has been confirmed that major proportion of milk rumenic acid is endogenously synthesized from vaccenic acid (t11-18:1), which is formed during biohydrogenation process (Richter et al., 2012). Therefore, extent of ruminal biohydrogenation importantly determines fatty acid composition in ruminant lipids. Theoretically, in order to promote the health-beneficial α -linolenic acid and CLA in ruminant derived products there should be an increase of content of these fatty acids and also vaccenic acid (for further endogenous synthesis of CLA) leaving the rumen. To do so, there are three fundamental strategies which are i) increasing PUFA supply, ii) protecting dietary lipids from biohydrogenation and iii) altering lipolysis and biohydrogenation steps.

Based on these three strategies, several methods have been investigated but their success can be expected only to some extent, and some methods may have side effects on digestibility and animal health. In spite of possible adverse effect of dietary oils on fiber degradation, increasing PUFA supply by feeding oils and oilseeds rich in either α -linolenic acid or linoleic acid (c9,c12-18:2) can increase milk rumenic acid content (Loureço et al., 2010) and, to lesser extent, content of the respective PUFA in milk fat. Protection of dietary PUFA can decrease biohydrogenation extent but it appeared to have only minimal effects on milk PUFA composition, except for formaldehyde treatment which, however, has not gained wide acceptance (Demeyer and Doreau, 1999). Because biohydrogenation is driven by rumen microbes a measure that alters rumen environment (e.g. pH, passage rate) and therewith the microbes may manipulate biohydrogenation. Starchy concentrate diets favoring a low ruminal pH can limit biohydrogenation extent but also shift isomer of the intermediates toward t10 derivatives in the rumen (Lor et al., 2003). However, these t10 derivatives were shown to have rather undesirable effects, i.e. eliciting milk fat depression (Harvatine et al., 2009) and increasing blood risk factors for cardiovascular diseases (Bissonauth et al., 2005). When comparing to grass silage, legume silages such as clovers can increase transfer of α -linolenic acid to the milk because of faster

passage rate through the rumen (red clover) or a lower lipolysis in the rumen (white clover, Chilliard et al., 2007). But the positive effect of legume silages on transfer of α -linolenic acid into milk was not always observed (van Dorland et al., 2008).

Some plant secondary compounds have antimicrobial properties (Wallace et al., 2004) and they are believed to be able to alter biohydrogenation of fatty acids. For instance, plant secondary compounds were hypothesized to be associated to the increased α -linolenic acid in milk of the cows grazing on alpine pasture (Leiber et al., 2005). To our knowledge, except for few indications (e.g. Cabiddu et al., 2010) which showed the increased α -linolenic acid effect, plant secondary compounds often resulted in the specific inhibition of the last biohydrogenation step leading to the increase of ruminal vaccenic acid (Durmic et al., 2008; Khiaosa-Ard et al., 2009; Vasta et al., 2009; Khiaosa-ard et al., 2011). Among the tested compounds, tannins are the most effective compounds as a vaccenic acid enhancer in the rumen (Khiaosa-Ard et al., 2009; Vasta et al., 2009). The inhibitory effect of tannins appears to be caused by a direct inhibition of rumen bacteria responsible for the last step of biohydrogenation, i.e. converting vaccenic to stearic acid (Vasta et al., 2010). Tanniferous forages have been shown to improve product quality such as increase CLA in meat and improve color stability and sensorial profiles (Vasta et al., 2008). The contributions of dietary tannins to animal production and product quality are, however, not always observed (Vasta et al., 2007; 2008), and structure and concentration of tannins present in the feeds seem to play an important role (Vasta et al., 2008). Likewise, Benchaar and Chouinard (2009) reported no effect of condensed tannins on milk fatty acid composition probably due to the dosage used. Other candidate substances are essential oils and their active components which have the potential to modify rumen fermentation but so far less is known for their effects on rumen biohydrogenation as well as animal product quality (Benchaar et al., 2008). However, their effects on modification of rumen metabolism also depend on nature of the active components, dosage use, type of basal diet, and adaptation period of rumen microbes to the presence of the compounds (Benchaar et al., 2008).

Conclusions

The goal of livestock production has changed from merely improving production efficiency to the more complicated goal, i.e. additional focus on safety as well as quality of the livestock products. Owing to microbial fermentation of nutrients in the rumen, cattle are relatively efficient animals for livestock production considering that they can utilize low quality foods and those which are not consumed by human at all such as grasses and factory by-products. On the other hand, they also contribute to global warming because of their methane emission from the enteric fermentation. The methane emission not only affects the environment but also represents the loss of consumed energy. Thus, mitigating enteric methane emission may improve animal production efficiency as well as contribute to climate change. The advanced research at the animal genetic level as well as at the microbial level has expanded the knowledge and deepens the understanding of methanogenesis. This could lead to a discovery of the more potential (long term) strategy for methane mitigation. *E. coli* shedding in cattle is one of the most concerns in terms of food safety of animal source foods. The management regarding *E. coli* shedding has changed from post slaughter to pre slaughter interventions. These include dietary and management strategies as well as probacterial and antipathogenic strategies. The improvement of quality of ruminant source foods relies mainly on improving their fatty acids composition toward health-promoting PUFA such as omega-3 fatty acids and CLA. Plant secondary compounds and essential oils appear to possess multi-beneficial effects that can contribute to food security and food safety and quality, i.e. decreasing *E. coli* shedding, mitigating enteric methane emission, and enriching PUFA in ruminant lipids. However, identification of active compounds for the use of these plant compounds as feed additives in livestock production remain a big challenge for livestock research.

References

- Ametaj, B.N., Koenig, K.M., Dunn, S.M., Yang, W.Z., Zebeli, Q., Beauchemin, K.A. 2009. Backgrounding and finishing diets are associated with inflammatory responses in feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 87:1314–1320
- Ametaj, B.N., Zebeli, Q., Iqbal, S. 2010a. Nutrition, microbiota, and endotoxin related diseases in dairy cows. *Rev. Bras. Zootec.* 39 (Suppl. 1):433–444
- Ametaj, B.N., Zebeli, Q., Saleem, F., Psychogios, N., Lewis, M.J., Dunn, S.M., Xia, J., Wishart, D.S., 2010b. Metabolomics reveals unhealthy alterations in rumen metabolism with increased proportion of cereal grain in the diet of dairy cows. *Metabolomics* 6:583–594
- Arthur, P.F., Archer, J.A., Johnston, D.J., Herd R.M., and Melville. G.J. 2001. Genetic and phenotypic variance and covariance components for feed intake, feed efficiency, and other postweaning traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 79:2805–2811
- Barcelo-Coblijn, G., ad Murphy, E.J. 2009. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain *n*-3 fatty acids: benefits for human health and a role in maintaining tissue *n*-3 fatty acid levels. *Prog. Lipid Res.* 48:355–374
- Beauchemin, K.A., and McGinn, S.M. 2006. Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil and canola oil. *J. Anim. Sci.* 84:1489–1496
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., and Beauchemin, K.A. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:209–228
- Benchaar, C., and Chouinard, P.Y. 2009. Assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:3392–3396
- Benchaar, C., Duynisveld, J.L., and Charmley, E. 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 86, 91–96
- Berard, N.C., Holley, R.A., McAllister, T.A., Ominski, K.H., Wittenberg, K.M., Bouchard, K.S., Bouchard, J.J., and Krause, D.O. 2009. Potential to reduce *Escherichia coli* shedding in cattle feces by using sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) forage, tested in vitro and in vivo. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:1074–1079
- Bhatta, R., Uyeno, Y., Tajima, K., Takenaka, A., Yabumoto, Y., Nonaka, I., Enishi, O., and Kurihara, M. 2009. Difference in the nature of tannins on *in vitro* ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *J. Dairy Sci.* 92:5512–5522
- Bissonauth, V., Chouinard, Y., Marin, J., Leblanc, N., Richard, D., and Jacques, H. 2005. The effects of t10,c12 CLA isomer compared with c9,t11 CLA isomer on lipid metabolism and body composition in hamsters. *J. Nutr. Biochem.* 17:597–603
- Cabiddu, A., Salis, L., Tweed J.K.S., Molle, G., Decandia, M., and Lee, M.R.F. 2010. The influence of plant polyphenols on lipolysis and biohydrogenation in dried forages at different phenological stages: *in vitro* study. *J. Sci. Food Agric.* 90:829–835
- Callaway, T.R., Anderson, R.C., Edrington, T.S., Genovese, K.J., Bischoff, K.M., Poole, T.L., Jung, Y.S., Harvey, R.B., and Nisbet, D.J. 2004. What are we doing about *Escherichia coli* O157:H7 in Cattle? *J. Anim. Sci.* 82:E93–E99
- Callaway, T.R., Carr, M.A., Edrington, T.S., Anderson, R.C., and Nisbet, D.J. 2009. Diet, *Escherichia coli* O157:H7, and Cattle: A Review After 10 Years. *Curr. Issues Mol. Biol.* 11: 67-80
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., and Doreau, M. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109:828–855
- Cottle, D.J., Novan, J.V., and Wiedemann, S.G. 2011. Ruminant enteric methane mitigation: a review. *Anim. Prod. Sci.* 51:491–514
- Cray, W.C.Jr., Casey, T.A., Bosworth, B.T., and Rasmussen, M.A. 1998. Effect of dietary stress on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in calves. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:1975–1979
- Dargatz, D.A., Wells, S.J., Thomas, L.A., Hancock, D.D., and Garber, L.P. 1997. Factors associated with the presence of *Escherichia coli* O157 in feces of feedlot cattle. *J. Food Prot.* 60:466–470
- Demeyer, D., and Doreau, M. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc. Nutr. Soc.* 58:593–607
- Dewhurst, R.J. 2005. Targets for milk fat research: nutrient, nuisance or nutraceutical? *J. Agric. Sci.* 143:359–367
- Durmic, Z., McSweeney, C.S., Kemp, G.W., Hutton, P., Wallace, R.J., and Vercoe, P.E. 2008. Australian plants with potential to inhibit bacteria and processes involved in ruminal biohydrogenation of fatty acids. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 145:271–284
- ECDC. 2011. Rapid risk assessment update: Outbreak of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 in the EU. European Centre for Disease Prevention Control. Available: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/110712_TER_Risk_Assessment_Ecoli.pdf. (accessed 19.02.2012)

- Edrington, T.S., Callaway, T.R., Varey, P.D., Jung, Y.S., Bischoff, K.M., Elder, R.O., Anderson, R.C., Kutter, E., Brabban, A.D., and Nisbet, D.J. 2003. Effects of the antibiotic ionophores monensin, lasalocid, laidlomycin propionate and bambamycin on *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 in vitro. *J. Appl. Microbiol.* 94:207–213
- FAO. 2009. The state of food and agriculture: livestock in the balance. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. Available: <http://www.fao.org/docrep/012/i0680e/i0680e.pdf> (accessed 14.02.2012)
- Fitzgerald, A.C., Edrington, T.S., Looper, M.L., Callaway, T.R., Genovese, K.J., Bischoff, K.M., McReynolds, J.L., Thomas, J.D., Anderson, R.C., and Nisbet, D.J. 2003. Antimicrobial susceptibility and factors affecting the shedding of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* in dairy cattle. *Lett. Appl. Microbiol.* 37:392–398
- Flachowsky, G. and Gabel, M. 2003. Beiträge der Tierernährung zur Lebensmittelsicherheit. *Arch. Tierz.* 46 (Sonderheft):94–100
- Gould, H. 2009. Update on the Epidemiology of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) in the United States. Capital Area Food Protection Association Meeting. 14 September 2009. Washington, DC. Gansheroff, L.J., and O'Brien, A.D. 2000. *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle presented for slaughter in the U.S.: higher prevalence rates than previously estimated. *PNAS* 97: 2959–2961
- Harrington, L.W., P.R. Hobbs. 2005. Challenge and threats in sustainable food production. In: Adequate Food for All: Culture, Science, and Technology of Food in the 21st Century. Pond, W.G., Nichols, B.L., and Brown, D.L. (eds.). CRC Press, Boca Raton, Fla.
- Harvatine, K.J., Perfield, J.W. II, and Bauman, D.E. 2009. Expression of enzymes and key regulators of lipid synthesis are up-regulated in adipose tissue during CLA-induced milk fat depression in the dairy cow. *J. Nutr.* 139:849–854
- Hegarty, R.S., Goopy, J.P., and McCorkell, B. 2007. Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. *J. Anim. Sci.* 105:1479–1486
- Herd, R. M., Arthur, P.F., Hegarty, R.S., and Archer, J.A.. 2002. Potential to reduce greenhouse gas emissions from beef production by selection to reduce residual feed intake. Communication 10-22 in Proc. 7th World Congr. Genet. Anim. Prod., Montpellier, France
- Hernandez-Sanabria, E., Goonewardene, L.A., Wang, Z., Durunna, O.N., Moore, S.S., and Guan, L.L. 2011. Impact of feed efficiency and diet on adaptive variations in the bacterial community in the rumen fluid of cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 78:1203–1214
- Hume, D.A., Whitelaw, C.B.A., and Archibald, A.L. 2011. The future of animal production: improving productivity and sustainability. *J. Agric. Sci.* doi:10.1017/S0021859610001188
- Iqbal, M.F., Cheg, Y-F., Zhu, W-Y., and Zeshan, B. 2008. Mitigation of ruminant methane production: current strategies, constraints and future options. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24:2747–2755
- Jayanegara, A. 2011. Modulation of ruminal methanogenesis and biohydrogenation of fatty acids by phenols present in tropical and temperate forage plants. Doctoral Thesis. ETH-Zurich, Zurich, Switzerland
- Jayanegara, A., Wina, E., Soliva, C.R., Marquardt, S., Kreuzer, M., and Leiber, F. 2011a. Dependence of forage quality and methanogenic potential of tropical plants on their phenolic fractions as determined by principal component analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163:231–243
- Jayanegara, A., Marquardt, S., Kreuzer, M., and Leiber, F. 2011b. Nutrient and energy content, *in vitro* ruminal fermentation characteristics and methanogenic potential of alpine forage plant species during early summer. *J. Sci. Food Agric.* 91:1863–1870
- Keen, J.E., Uhlich, G.A., and Elder, R.O.. 1999. Effects of hay and grain based diets on fecal shedding of naturally acquired enterohemorrhagic *E. coli* O157 in beef feedlot cattle. 80th Conference Research Workers in Animal Diseases, Nov. 7–9, Chicago, IL
- Khiaosa-Ard, R., Bryner, S.F., Scheeder, M.R.L., Wettstein, H-R., Leiber, F., Kreuzer, M., and Soliva, C.R. 2009. Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal α -linolenic acid biohydrogenation by condensed tannins. *J. Dairy Sci.* 92:177–188
- Khiaosa-ard, R., Soliva, C.R., Kreuzer, M., and Leiber, F. 2011. Influence of alpine forage either employed as donor cow's feed or as incubation substrate on *in vitro* ruminal fatty acid biohydrogenation. *Livest. Sci.* 140: 80–87
- Leiber, F., Kreuzer, M., Nigg, D., Wettstein, H.-R., and Scheeder, M.R.L. 2005. A study on the causes for the elevated n-3 fatty acids in cow's milk of alpine origin. *Lipids* 40:191–202
- Loor, J.J., Hoover, W.H., Miller-Webster, T.K., Herbein, J.H., and Polan, C.E. 2003. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids in continuous culture fermenters during digestion of orchardgrass or red clover with three levels of ground corn supplementation. *J. Anim. Sci.* 97:1611–1627
- Lourenço, M., Ramos-Morales, E., and Wallace, R.J. 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal* 4:1008–1023

- Matossian, M.K. 1989. *Poisons of the Past: Molds, Epidemics and History*. New Haven: Yale University Press
- Mensink, G.B.M., Burger, M., Beitz, R., Henschel, Y., and Hintzpetter, B. 2002. Was essen wir heute? Ernährungsverhalten in Deutschland. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Robert Koch-Institut, Berlin
- Min, B.R., W.E. Pinchak, R.C. Anderson, and Callaway, T.R. 2007. Effect of tannins on the in vitro growth of *Escherichia coli* O157:H7 and in vivo growth of generic *Escherichia coli* excreted from steers. *J. Food Prot.* 70:543-550
- Okine, E.K., Basarab, J.A., Baron, V., and Price, M.A. 2001. Net feed efficiency in young growing cattle: III. Relationship to methane and manure production. Abstracts of Presentations and Posters. Agricultural Institute of Canada, 2001 Conference, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada
- Oltenucu, P.A., and Algers, B. 2005. Selection for increased production and the welfare of dairy cows: are new breeding goals needed? *Ambio.* 34:311–315
- Oltjen, J. W., and Beckett, J. L. 1996. Role of ruminant livestock in sustainable agricultural systems. *J. Anim. Sci.* 74:1406–1409
- Ominski, K.H., and Wittenberg, K.M. 2004. Strategies for reducing enteric methane emissions in forage-based beef production systems. Presentation: "The Science of Changing Climates- Impact on Agriculture, Forestry and Wetlands" July 20- 23 2004 University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada. Available: http://www.vido.ca/beefinonet/otherareas/pdf/Strategies_reducingemmission_sominski.pdf (accessed 19.02.2012)
- Pariza, M.W., and Ha, Y.L. 1990. Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: a new class of anticarcinogenens. *Med. Oncol. Tumor Pharmacother.* 7:169–171
- Park, Y.W. 2009. Overview of bioactive components in milk and dairy products. Available: http://media.johnwiley.com.au/product_data/excerpt/22/08138198/0813819822.pdf (accessed 25.02.2012)
- Patra, A.K., and Saxena, J. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 91:24–37
- Ransom, J.R., and Belk, K.E. 2003. Investigation of on-farm management practices as pre-harvest beef microbiological interventions. Project Summary, National Cattle men's Beef Association Center for Research & Knowledge Management, Centennial, CO. Available: <http://www.beefusa.org/uDocs/ACF3A9B.pdf> (accessed 20.02.2012)
- Richter, E. K., Spangenberg, J.E., Klevenhusen, F., Soliva, C.R., Kreuzer, M., Leiber, F. 2012. Stable carbon isotope composition of c9,t11-conjugated linoleic acid in cow's milk as related to dietary fatty acids. *Lipids* 47:161–169
- Schlüter, A.S. 2006. Die amtliche Fleischuntersuchung der Tierart Rind in Deutschland: Retrospektiven, Status quo und Perspektiven. Diss., Ludwiv-Maximilians-Universität München, Deutschland
- Simopoulos, A.P. 2001. Evolutionary aspects of diets, essential fatty acids and cardiovascular disease. *Eur. Heart J. Suppl.* 3:D8–D21
- Simopoulos, A.P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 6:365–379
- Sørensen, J. T., Edward, S., Noordhuizen, J., and Gunnarsson, S. 2006. Animal production systems in the industrialised world. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 25:493–503
- Sperlich, H. 1980. 100 Jahre chemische Lebensmittelüberwachung in Karlsruhe; *Deutsche Lebensm.-Rundsch.* 76, S. 86-91. Available: <http://www.vis.bayern.de/ernaehrung/lebensmittelsicherheit/ueberwachung/grundlagen.htm> (accessed 25.02.2012)
- Staerfl, S.M., Kreuzer, M., and Soliva, C.R. 2010. In vitro screening of unconventional feeds and various natural supplements for their ruminal methane mitigation potential when included in a maize-silage based diet. *J. Anim. Feed Sci.* 19:651–664
- Tavendale, M.H., Meagher, L.P., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G.T., and Sivakumaran, S. 2005. Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124:403–419
- Theves, G. 2002. Meat inspection in the second half of the 19th Century, sign of progress in applied sciences. *Bull. Soc. Sci. Med. Grand Duché Luxemb.* 35-59
- Tiemann, T.T., Lascano, C.E., Kreuzer, M., and Hess, H.D. 2008. The ruminal degradability of fibre explains part of the low nutritional value and reduced methanogenesis in highly tanniferous tropical legumes. *J. Sci. Food Agric.* 88:1794–1803
- Van Baale, J.M., Sargeant J.M., Gnad, D.P., DeBey, B.M., Lechtenberg, K.F., and Nagaraja T.G. 2004. Effect of forage or grain diets with or without monensin on ruminal persistence and fecal *Escherichia coli* O157:H7 in cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:5336–5342
- Van Dorland, H.A., Kreuzer, M., Leuenberger, H., and Wettstein, H.R. 2008. Comparative potential of white and red clover to modify the milk fatty acid profile of cows fed ryegrass-based diets from zero-grazing and silage systems. *J. Sci. Food Agric.* 88:77–85

- Vasta, V., Makkar, H.P.S., Mele, M., and Priolo, A. 2009. Ruminal biohydrogenation as affected by tannins *in vitro*. *Br. J. Nutr.* 102:82–92
- Vasta, V., Nudda, A., Cannas, A., Lanza, M., and Priolo, A. 2008. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147:223–246
- Vasta, V., Pennisi P., Lanza, M., Barbagallo, D., Bella, M., and Priolo, A. 2007. Intramuscular fatty acid composition of lambs given a tanniniferous diet with or without polyethylene glycol supplementation. *Meat Sci.* 76:739–745
- Vasta, V., Yáñez-Ruiz, D.A., Mele, M., Serra, A., Luciano, G., Lanza, M., Biondi, L., and Priolo, A. 2010. Bacterial and Protozoal Communities and Fatty Acid Profile in the Rumen of Sheep Fed a Diet Containing Added Tannins. *Appl. Environ. Microbiol.* 76:2549–2555
- Wallace, R.J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proc. Nutr. Soc.* 63:621–629
- Windig, J.J., Calus, M.P.L., Beerda, B., and Veerkamp, R.F. 2006. Genetic correlations between milk production and health and fertility depending on herd environment. *J. Dairy Sci.* 89:1765–1775
- Wood, J.D., Enser, M., Richardson, R.I., and Whittington, F.M. 2008. Fatty acids in meat and meat products. In: *Fatty Acids in Foods and Their Health Implication 3rd edition*. Chow C.K. (ed). CRC Press, Boca Raton, Fla. 87–107
- World Food Summit. 1996. Accessible at <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4671e/y4671e00.pdf> (accessed 25.02.2012)
- Zebeli, Q., Metzler-Zebeli, B.U. 2012. Interplay between rumen digestive disorders and diet-induced inflammation in dairy cattle. *Res. Vet. Sci.* doi:10.1016/j.rvsc.2012.02.004
- Zebeli, Q., Mansmann, D., Steingass, H., Ametaj, B.N. 2010. Balancing diets for physically effective fibre and ruminally degradable starch: a key to lower the risk of sub-acute rumen acidosis and improve productivity of dairy cattle. *Livest. Sci.* 127:1–10
- Zebeli, Q., Dunn, S.M., Ametaj, B.N. 2011. Perturbations of plasma metabolites correlated with the rise of rumen endotoxin in dairy cows fed diets rich in easily degradable carbohydrates. *J. Dairy Sci.* 94:2374–2382
- Zhou, M., Hernandez-Sanabria, E., and Guan, L.L. 2009. Assessment of the microbial ecology of ruminal methanogens in cattle with different feed efficiencies. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:6524–6533

Corresponding author

Univ.-Prof. Dr.sc.agr. Qendrim Zebeli
Institute of Animal Nutrition
University of Veterinary Medicine Vienna
Veterinaerplatz 1
A-1210 Vienna
E-mail: qendrim.zebeli@vetmeduni.ac.at

Einfluss der Tierernährung auf Effizienz und Ökologie in der Fleischerzeugung

Wolfgang Wetscherek

Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Inter-universitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien

Zum Zeitpunkt der Drucklegung war das Manuskript nicht verfügbar.

Antinutritive Substanzen in Österreichs Futtermitteln

Irmengard Strnad

Institut für Tierernährung und Futtermittel, AGES Wien

Einleitung

Die Konkurrenz der Agrarrohstoffe für die Lebensmittel-, Futtermittel- und Energiegewinnung auf immer geringer werdenden Flächen und der gleichzeitig steigende Bedarf an Lebensmitteln tierischer Herkunft verbunden mit hohem Qualitätsbewusstsein im Hinblick auf die gesamte Nahrungsmittelkette erfordert einen schonenden Umgang mit den verfügbaren Ressourcen zur Futtermittelherstellung. Die Verfügbarkeit sicherer und hochwertiger Futtermittel und die Nutzbarmachung von Futtermitteln, die aufgrund von antinutritiven Substanzen einen geringen Nährwert aufweisen, bzw. für die Fütterung ungeeignet sind, gewinnen damit zunehmend an Bedeutung.

Antinutritive Substanzen

Antinutritive Substanzen sind Stoffe, die eine maximale Verwertung der mit dem Futtermittel aufgenommenen Nährstoffe einschränken und somit den Futterwert schmälern bzw. eine negative Wirkung auf das Tier haben können. Sie gehören zur Gruppe der sekundären Inhaltsstoffe und werden im Gegensatz zu Nährstoffen wie Kohlenhydraten, Proteinen, Fetten und Ballaststoffen, die im primären Stoffwechsel der Pflanze gebildet werden, im Zuge des sekundären Stoffwechsels generiert. Damit erfüllen sie eine Vielzahl unterschiedlichster Funktionen in der Pflanze und dienen unter anderem als Abwehrstoffe gegen Schädlinge und Krankheiten, als Wachstumsregulatoren und als Farbstoffe. Antinutritive Substanzen gehören unterschiedlichen Substanzklassen an und kommen in unterschiedlichen Pflanzenarten vor. Beispielhaft sind einige antinutritive Substanzen in Tabelle 1 genannt.

Tabelle 1: Antinutritive Substanzen und deren Vorkommen (nicht abschließend)

Antinutritive Substanzen	Vorkommen
Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP) - Pentosane - Glucane	Getreide, Leguminosen
Unverdauliche Oligosaccharide - Raffinose - Stachyose - Verbascose	Leguminosen
Proteinase-Inhibitoren	Leguminosen (v.a. Sojabohne)
Lectine, Tannine, Saponine	Leguminosen
Cyanogene Glucoside Glucosinolate Isoflavonoide	Lein Raps Sojabohne
Phytinsäure	alle pflanzlichen Futtermittel

Zu den Auswirkungen der antinutritiven Substanzen auf das Tier zählen vor allem Veränderungen in der Verdaulichkeit der Nährstoffe, Stoffwechselstörungen und verringerte Futteraufnahme, weshalb diese Futtermittel nur in eingeschränkter Menge zum Einsatz kommen können. Durch Anwendung von

Enzymen als Futtermittelzusatzstoff bzw. durch technologische Schritte wie zum Beispiel Erhitzung können diese negativen Effekte reduziert werden.

Anhand der Beispiele Nicht-Stärke-Polysaccharide, Phytinsäure und Trypsininhibitoren werden Vorkommen, Auswirkungen und Möglichkeiten der Reduzierung dargestellt.

Nicht-Stärke-Polysaccharide in Getreide

In der Versorgung der Nutztierbestände mit energiereichen Futtermitteln spielt Getreide eine wichtige Rolle. So wird mehr als die Hälfte des in Österreich erzeugten Getreides in der Tierernährung eingesetzt. Neben dem Protein- und Stärkegehalt beeinflusst auch der Gehalt an Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP) den Nährwert des Getreides.

Die Gruppe der NSP gehört zu den Zellwandkohlenhydraten und umfasst wie der Namen schon sagt alle Polysaccharide mit Ausnahme der Stärke, wie z.B. Cellulose, β -Glucane, Pentosane etc. Die genaue Definition der NSP bereitet einige Schwierigkeiten, weil die Struktur dieser Polysaccharide sehr heterogen ist.

Analytisch wird die Gruppe der NSP aufgrund deren sehr unterschiedlicher Löslichkeitsverhalten einerseits in der Rohfaserfraktion (z.B. Cellulose) andererseits in der Fraktion der stickstofffreien Extraktstoffe (z.B. Pektin) erfasst (Abbildung 1).

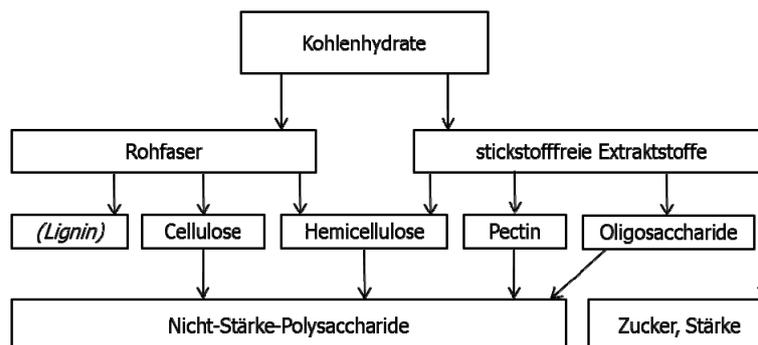


Abbildung 1: Klassifikation der Kohlenhydrate

Aus ernährungsphysiologischer Sicht wird zwischen der verdaulichen Stärke und den schwer verdaulichen NSP unterschieden. Der tierische Organismus verfügt über keine eigenen Verdauungsenzyme für NSP, die erst im Dickdarm durch die dort vorhandene Mikrobenflora, deren Enzyme NSP hydrolysieren können, abgebaut werden. Die negative Wirkung dieser Substanzen resultiert aus unterschiedlichen Effekten. Schwer verdauliche NSP setzen einerseits die Energiedichte des Futters herab (Verdünnungseffekt), andererseits schließen sie als Zellwandsubstanzen andere hochverdauliche Nährstoffe ein und entziehen sie so dem Abbau (Käfigeffekt). Entscheidend für die antinutritive Wirkung ist der lösliche Anteil der Pentosane und β -Glucane, der durch das hohe Wasserbindungs- und Quellvermögen für die gesteigerte Viskosität der Digesta verantwortlich ist und dadurch zur Verlangsamung der Futterpassage und schlechteren Nährstoffabsorption führt.

NSP kommen vorwiegend im Endosperm des Getreides vor. Der Gehalt schwankt erheblich und ist neben der Pflanzenart und -sorte von klimatischen Bedingungen, dem Anbauort und dem Erntezeitpunkt abhängig (Tabelle 2).

Tabelle 2: NSP-Gehalte und deren löslicher Anteil in unterschiedlichen Getreidesorten (g/kg TS) aus unterschiedlichen Literaturstellen

		Gerste	Roggen	Weizen	Hafer	Mais
Arabinoxylan	gesamt	57 - 75	60 - 100	60 - 70	58 - 77	37 - 42
	löslich	2 - 9	19 - 45	12 - 14	4 - 5	4 - 10
b-Glucan	gesamt	30 - 60	11 - 24	3 - 11	33 - 43	1 - 3
	löslich	24 - 50	5 - 7	5 - 7	18 - 23	-

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass lösliche β -Glucane vor allem in Gerste vorkommen, lösliche Pentosane hingegen in Roggen. Für diese Getreidearten gibt es Empfehlungen für die maximalen Getreideanteile in Alleinfuttermitteln für Küken und Ferkel, die auf diese Substanzen besonders empfindlich reagieren.

Durch Einsatz von Futtermittelenzymen (Glucanasen und Xylanasen) können die verzweigten Strukturen der NSP aufgebrochen (Herabsetzung der Viskosität) und eingeschlossene Nährstoffe freigesetzt (Erhöhung der umsetzbaren Energie) werden. NSP-spaltende Enzyme sind aufgrund des hohen Maisanteiles in der Geflügel- und Schweinemast in Österreich nicht so verbreitet wie in anderen Ländern.

Phytinsäure in Getreide

Einen weiteren wichtigen schlecht verdaulichen Futterinhaltsstoff stellen die Phytinsäure (Hexaphosphorsäureester des Inositols) und deren Salze (Phytat) dar. Die maximal sechs Phosphatgruppen des Inositol-Ringes können verschiedene Kationen, wie z.B. Calcium, Magnesium, Eisen und Zink in festen Komplexen binden und somit deren Verfügbarkeit beeinträchtigen. Zink ist das Spurenelement, dessen Bioverfügbarkeit durch Phytat am meisten beeinflusst wird. Zusätzlich werden bei niedrigem pH und niedriger Kationen-Konzentration durch direkte elektrostatische Interaktion Phytat-Protein-Komplexe gebildet, die die Proteinverdaulichkeit herabsetzen.

Phytinsäure dient in ausgereiften Pflanzenkeimen als Hauptspeicher für Phosphat. Von im Getreidekorn vorliegendem Phosphor sind 50-80 % als Phytinsäure gebunden und sind für Monogastrier aufgrund des fehlenden Enzyms Phytase nicht verfügbar. Lediglich in einigen pflanzlichen Futtermitteln, wie z.B. Weizen und Roggen (Tabelle 3) lässt sich eine bestimmte Phytaseaktivität nachweisen, die jedoch durch hydrothermische Verarbeitungsprozesse inaktiviert wird.

Tabelle 3: Gesamtphosphor- und Phytatphosphorgehalt und Phytaseaktivität einiger Einzelfuttermittel

	P-Gehalt g/kg TS	Phytat-P % des Gesamt-P	Phytaseaktivität U/kg
Gerste	4,0	65 - 84	400
Triticale	4,0	72	1200
Weizen	3,5	63 - 74	700
Roggen	6,0	71	40000
Ackerbohne	4,2	70	n.n.

Phytasen als Futtermittelzusatzstoffe können die Phosphatgruppen der Phytinsäure abspalten und so die Phosphatverfügbarkeit für das Tier erhöhen. Dadurch werden teure anorganische Phosphatzulagen im Futter eingespart, die Menge an Phosphorausscheidung zur Schonung der Umwelt reduziert und die Verfügbarkeit von Mengen- und Spurenelementen verbessert.

Trypsininhibitoren in Sojabohnen

Die Sojabohne bzw. daraus hergestellte Sojaextraktionsschrote oder -kuchen sind aufgrund ihres hohen Eiweiß- und Energiegehaltes sowie ihrer Schmackhaftigkeit hervorragende Futtermittel. Die rohe Sojabohne enthält antinutritive Inhaltsstoffe, die die Verdaulichkeit von Eiweiß und Aminosäuren beeinträchtigen. Dies geschieht weil Trypsininhibitoren zwei eiweißspaltende Enzyme der Bauchspeicheldrüse (Trypsin und Chymotrypsin) hemmen. Sojabohnen müssen deshalb vor der Verfütterung an Monogastrier hitzebehandelt (Toastung) werden um die antinutritiven Substanzen zu reduzieren. Dabei werden die Bohnen auf über 100 °C unter Dampfdruck für circa 15 Minuten erhitzt. Zu starke Erhitzung führt jedoch zur Reduktion der Bioverfügbarkeit der Aminosäuren. Eine maßvolle Erhitzung ist der Schlüssel für eine hohe Eiweißqualität und für eine optimale Wachstumsleistung der Tiere, weshalb Eiweiß-, Fett- und Aminosäuregehalt (v.a. Lysin) aber auch die Trypsininhibitoraktivität (TIA) zu den wichtigsten Faktoren der Qualitätsbeurteilung der Sojabohne gehört.

Die Bestimmung der Trypsininhibitoraktivität (TIA) erfolgt gemäß ISO 14902. Diese Methode beruht auf der Messung der Aktivitätsabnahme von bovinem Trypsin bei Verwendung eines künstlichen Substrates (Benzoyl-L-Arginin-p-Nitroanilid) bei gleichzeitiger Anwesenheit von Trypsininhibitoren aus der Extraktionslösung der Sojabohne. Die verbleibende Aktivität wird durch die Menge an aus dem Substrat freigesetztem p-Nitroanilid spektrophotometrisch bei 410 nm bestimmt. Mit diesem Verfahren können Rückschlüsse auf den Erhitzungsgrad aber auch auf züchterische Unterschiede zwischen Sorten gezogen werden.

Neben der oben erwähnten Methode gibt es auch noch weitere Methoden zur Qualitätsbeurteilung von Sojabohnen und deren Produkte. Diese Methoden sind jedoch weniger aussagekräftig bzw. nur indirekte Bestimmungen: Charakteristisch für Sojabohnen ist das Vorkommen größerer Mengen an Urease, deren Inaktivierung durch Hitzebehandlung Indikator für eine mögliche Abwesenheit antinutritiver Faktoren wie Trypsininhibitoren sein kann. Um die Ureaseaktivität zu bestimmen wird die Menge an Ammoniak-Stickstoff, die von 1 g Substrat pro Minute bei 30 °C aus einer gepufferten Harnstofflösung freigesetzt wird, durch Titration auf pH 4,7 bestimmt. Ausreichend getoastete Sojabohnen sollten ein Ergebnis von kleiner 0,5 mg N/g*min aufweisen. Bei der Toastung mit heißem Wasserdampf besteht eine sehr gute Korrelation zwischen TIA- und Ureaseergebnissen. Trockenes Erhitzen hingegen verursacht eine wesentlich schnellere Ureaseinaktivierung, während der TIA-Wert noch hoch bleibt. Die Ureaseaktivitätsbestimmung ist nur für erhitzte Produkte anwendbar. Die Aktivität roher Sojabohnen kann damit nicht bestimmt werden. Aus den Ergebnissen in Tabelle 4 ist ersichtlich, dass die Bestimmung der Ureaseaktivität nicht immer verlässliche Werte liefert um eine ausreichende Erhitzung zu bestätigen.

Tabelle 4: Ergebnisse vergleichender Untersuchungen von TIA- und Ureasebestimmung

	TIA (mg/g)	Ureaseaktivität
rohe Sojabohne	20,4	nicht bestimmbar
getoastete Sojabohne	1,4	< 0,01
Sojaexpeller	9,7	0,12
Sojaextraktionsschrot (exp.)	6,9	0,15

Als weiterer Parameter zur Qualitätsbestimmung erhitzter Sojabohnen gilt die Eiweißlöslichkeit. Zur Bestimmung der Eiweißlöslichkeit wird die Probe in Wasser extrahiert und im Extrakt der Eiweißgehalt nach Kjeldahl ermittelt und mit dem Eiweißgehalt der Sojabohne in Relation gesetzt. Die Eiweißlöslichkeit von optimal getoasteten Sojabohnen liegt zwischen 10 und 35%. Werte von weniger als 10 % können auf eine Überhitzung deuten. Ein großer Nachteil der Methode liegt in der sehr schlechten Reproduzierbarkeit.

Die Bestimmung der Trypsininhibitoraktivität erlaubt die genauesten Aussagen über die Inaktivierung der Inhibitoren der Sojabohne. Zwischen der Abwesenheit von Trypsininhibitoren und der Wachstumsleistung von Küken besteht eine hohe Korrelation, weshalb dieser Parameter für Nutztierhalter wichtig ist.

Als Richtwerte für eine ausreichende Erhitzung gibt es unterschiedliche Angaben. Meist wird ein TIA-Wert von max. 5 mg/g empfohlen. Für Jungtiere kann sich dieser Richtwert auf 2,5-3 mg/g reduzieren. Es gibt aber auch Angaben, die den TIA-Wert in Abhängigkeit des Eiweißgehaltes bewerten.

In letzter Zeit wird versucht die Trypsininhibitoren züchterisch zu eliminieren. Ziel ist es die Wärmebehandlung aus wirtschaftlicher und ökologischer Sicht zu vermeiden, da sie teuer ist und viel Energie benötigt, und dem Tierhalter zu ermöglichen Soja direkt den Tieren zu füttern.

Der Gehalt an Trypsininhibitoren schwankt mit der Sorte, ist aber auch von den Umweltbedingungen abhängig. Durch die Analyse der TIA lassen sich signifikante genotypische Unterschiede nachweisen.

Im vorliegenden Datenmaterial wurden 5 Testsorten (3 konventionelle Sorten, 2 TIA-reduzierte Sorten) an insgesamt 6 Standorten (A bis F) in 3 aufeinanderfolgenden Jahren auf ihre Trypsininhibitoraktivität getestet (Abbildung 2). Aus den Ergebnissen resultiert eine signifikante Orts- (41%), Sorten- (32%) und Jahres- (15%) Variabilität. Trotz deutlicher Reduktion der TIA liegen die Aktivitäten noch zu hoch um die Wärmebehandlung ersetzen zu können.

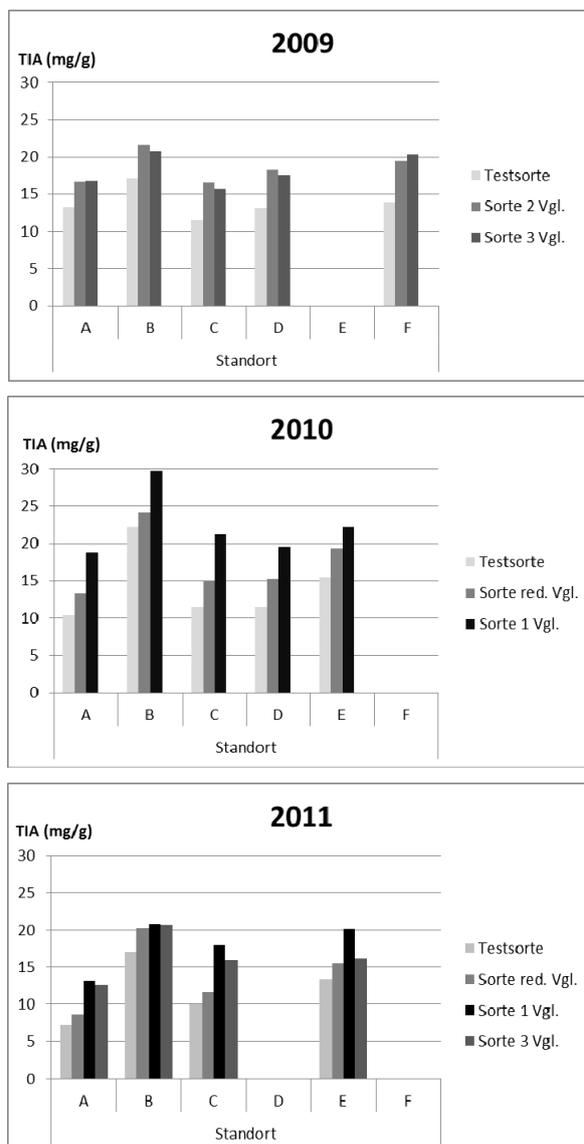


Abbildung 2: TIA-Werte verschiedener Sorten an unterschiedlichen Standorten (3jähriger Zeitraum)

Zusammenfassung

Antinutritive Substanzen spielen in der Fütterungspraxis eine große Rolle. Neben dem Aspekt der Tiergesundheit gilt es auch ökonomische und ökologische Aspekte einzubeziehen. Diese Gesichtspunkte erfordern eine Weiterentwicklung der bislang verfolgten Ansätze. Die Erhöhung der Wirksamkeit und

die Erweiterung des Wirkungsspektrums der Futtermittelenzyme, die spezifische Aufgaben bei der Futteraufbereitung und im Verdauungstrakt zu erfüllen haben, aber auch die Weiterentwicklung von Pflanzzüchtungen und technologischen Aufbereitungsschritten sind herausfordernde Aufgaben für die Zukunft.

Literatur

4. BfR-Forum Verbraucherschutz „Pflanzliche Stoffe - gesund und giftig zugleich?, 2007
- BAKKER G.C.M. et al., 1998. Non-starch polysaccharides in pig feeding, *Vet. Quart.* 20-3, 59-64
- BÜHLER M., 2004. Enzyme in der Tierernährung, AWT
- CLARKE E. J., WISEMAN J., 2000. Developments in plant breeding for improved nutritional quality of soya beans II. Anti-nutritional factors; *The Journal of Agricultural Science* 134, p. 125-136
- DIN EN ISO 14902:2001, Futtermittel – Bestimmung der Trypsininhibitoraktivität in Sojaerzeugnissen
- FELIPE P., Yang Y.H, 2005. Effect of Cultivars, Cooking and Processing on the Trypsin Inhibitor Activity of Soybean. *Journal of Food Science and Nutrition* 10(1) p. 6-10
- PALLAUF, J.; Rimbach, G., 1997. Nutritional significance of phytic acid and phytase, *Arch Tierernähr.* 50(4), p. 301-19
- PFEFFER E. et al., Einfluss der Düngung auf die Verdaulichkeit des Phosphors aus heimischen pflanzlichen Futtermitteln beim Schwein, Forschungsbericht Nr. 87, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Landwirtschaftliche Fakultät
- RODEHUTSCORD, M., 2001 Der gegenwärtige Stand der Phosphorbewertung für Nutztiere. *Lohmann Information* 1, 1-9
- SELLE, P. H.; Ravindran, V.; Caldwell, R. A.; Bryden, W. L., 2000. Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. *Nutrition Research Reviews* 13, 255-278
- VARGA-VISI E. et al., 2009. Evaluation of the Inactivation of Heat Sensitive Antinutritive Factors in Fullfat Soybean. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria* 2,1, p.111-117
- VDLUFA-Methodenbuch III 1997, Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, Ureaseaktivität, Eiweißlöslichkeit
- VOLLMANN, J., H. GRAUSGRUBER, H. WAGENTRISTL, H. WOHLESER, P. MICHELE, 2003. Trypsin inhibitor activity of soybean as affected by genotype and fertilization; *J. Sci. Food Agric.* 83:1581-1586
- YUEMING D.-L. et al., 2005. Assessing Soy Protein Quality, *Feed International* July 2005, 17-22

Autorenanschrift

DI Irmengard STRNAD
Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit
Institut für Tierernährung und Futtermittel
Wieningerstrasse 8
A-4020 Linz
E-Mail: irmengard.strnad@ages.at

Ein Modell zur Beschreibung der ME-Aufnahme von weiblichen Aufzuchtrindern

Karl Rutzmoser und Thomas Etle

Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub

Einleitung

In der Beratung zur Fütterung von weiblichen Aufzuchtrindern ist eine wichtige Aufgabe, das Angebot an Energie im Futter mit der erwarteten Leistung in Übereinstimmung zu bringen. Für verallgemeinerbare Aussagen ist es hilfreich, die Zusammenhänge von Futter und Leistung mit vereinfachten Modellen zu beschreiben.

Bei der Ableitung des ME-Bedarfs wird nach Energiebedarf für Erhaltung und Leistung unterschieden. Diese Aufteilung wird auch zur Beschreibung des vorgeschlagenen Modells der ME-Aufnahme bei Aufzuchtrindern vorgenommen. Die über die Erhaltung hinausgehende Aufnahme an Energie wird für die Leistung verwendet und deckt den Bedarf dafür, bei wachsenden Rindern für den Zuwachs an Körpermasse. Aus Versuchsergebnissen wird die Verwertung der Energie abgeleitet in Form der Zunahme je MJ ME für Leistung innerhalb von Gewichtsklassen. Gestaffelt nach Lebendgewicht werden Leitpunkte der Energieverwertung vorgeschlagen, aus denen die erforderliche ME-Aufnahme für die angestrebte Leistung (Zunahme) ermittelt werden kann. Die Vorgehensweise ist mit dem Vorschlag von Rutzmoser u. a. (2010) für männliche Aufzuchtkälber und Mastbullen vergleichbar.

Aufteilung der Energieaufnahme

Die Aufnahme an Energie als MJ ME je Tag wird aufgeteilt in den Erhaltungsbedarf und den Aufwand für den Zuwachs an Lebendgewicht. Der Erhaltungsbedarf für wachsende Rinder ist auf das metabolische Lebendgewicht W in kg bezogen (GfE 1997):

$$0,53 * W^{0,75} \text{ [MJ ME Tag]}$$

Dieser Wert des Erhaltungsbedarfes gilt eigentlich nur für wiederkäuende Rinder. Kälber mit einer Verdauung als Monogaster können mehr Energie für Umsetzungen aus dem Futter nutzen. Deshalb ist bei vergleichbaren Futtermitteln die ME für Schweine um etwa 15 % höher als die ME für Wiederkäuer. Zudem werden junge Kälber mit einem größeren Milchanteil im Futter versorgt, was eine günstige Energieverwertung erwarten lässt. Dies wird zweckmäßigerweise mit einem niedrigeren Erhaltungsbedarf berücksichtigt. Abgeleitet aus Versuchsergebnissen werden für junge Kälber bei 40 kg Lebendgewicht $0,29 \text{ MJ ME je } W^{0,75}$ angesetzt und bis 160 kg Lebendgewicht der Erhaltungsbedarf gleitend bis $0,53 \text{ MJ ME je } W^{0,75}$ gesteigert.

Der über den Erhaltungsbedarf hinaus gehende Teil der Gesamt-ME-Aufnahme wird für die Leistung, den Zuwachs an Körpermasse verwendet, ausgedrückt in g Zunahme je Tag. Diese ME-Menge ist der ME-Bedarf für die Zuwachsleistung.

Verwertung der Energie für Leistung

Wird die Tageszunahme in g auf die ME für Leistung bezogen (g Zunahme/MJ ME für Leistung) ergibt sich die Verwertung, ausgedrückt in g Zunahme je MJ Leistungs-ME. Diese Form hat den Vorteil einer kleineren Streuung gegenüber dem Kehrwert ME/kg Zuwachs.

Die Verwertung g Zunahme je Leistungs-ME verändert sich mit dem Lebendgewicht, begründbar mit einer Verschiebung des Fettanteiles am Zuwachs. Deshalb ist die Verwertungskennzahl abhängig vom Lebendgewicht zu beschreiben. In Abstimmung mit nachfolgend beschriebenen Versuchsergebnissen werden für weibliche Kälber und Aufzuchtrinder bei bestimmten Lebendgewichten so bezeichnete Leitpunkte der ME-Verwertung festgelegt.

Bis 40 kg Lebendgewicht	64 g Zunahme/ME für Leistung
80 kg Lebendgewicht	58 g Zunahme/ME für Leistung
120 kg Lebendgewicht	52 g Zunahme/ME für Leistung
160 kg Lebendgewicht	46 g Zunahme/ME für Leistung
200 kg Lebendgewicht	42 g Zunahme/ME für Leistung
400 kg Lebendgewicht	35 g Zunahme/ME für Leistung
ab 600 kg Lebendgewicht	32 g Zunahme/ME für Leistung

Die erwartete ME-Aufnahme für bestimmte Leistungen bei einem bestimmten Gewicht ergibt sich nach dem Modell aus dem Erhaltungsbedarf und dem Leistungsbedarf, welcher sich aus Tageszunahme geteilt durch ME-Verwertung errechnet. Die ME-Verwertung bei zwischen den Leitpunkten liegenden Gewichten wird linear interpoliert.

Versuch mit Aufzuchtrindern

Zur Bestimmung der Leistungsverwertung aus Versuchsdaten müssen Lebendgewicht, Zunahmeleistung und ME-Aufnahme verfügbar sein. In einem Versuch der LfL zur Frage unterschiedlichen Erstkalbealters wurden Futter- und Leistungsdaten vom Kalb (ab etwa 50 bis 60 kg) bis zum Abkalben erfasst (Ettle u. a. 2011). Die Ergebnisse zu Leistungen, ME-Aufnahme und der Verwertung sowie die aus dem Modell anzusetzenden Werte sind in Tabelle 1 aufgeführt. Dabei wurden im Bereich der Kälberaufzucht bis 160 kg Gewichtsklassen mit 40 kg Breite gebildet. In der Jungrinderaufzucht wurden 100-kg-Gewichtsklassen zusammen gefasst.

Tabelle 1: Leistung, ME-Aufnahme und -Verwertung nach Versuch und Modell in Gewichtsklassen (bis Klasse 140 kg in 40-kg Klassen, ab Klasse 200 kg in 100-kg Klassen)

Gewichtsklasse, (Tierzahl)	mittleres Gewicht kg	Zunahme g/Tag	Erhaltung-Bedarf MJ ME/Tag	Aufnahme Versuch MJ ME/Tag	Aufnahme Modell MJ ME/Tag	Verwert. Versuch g/MJ ME	Verwert. Modell g/MJ ME
60 (86)	67,2	652	8,1	17,6	19,0	69,0	59,9
100 (149)	98,1	799	12,7	27,5	27,2	54,1	55,3
140 (131)	138,6	968	19,7	42,2	39,4	43,0	49,2
200 (306)	200,6	967	28,2	52,7	50,8	39,5	42,8
300 (354)	301,6	836	38,3	62,9	60,1	34,0	38,4
400 (381)	400,3	771	47,4	69,4	69,3	35,1	35,3
500 (369)	499,4	788	56,0	80,4	79,5	32,3	33,5
600 (306)	598,2	891	64,1	89,0	91,8	35,8	32,2

Die Verwertung der Energie, bei der die Zunahmeleistung auf die ME für die Leistung bezogen wird, sinkt bis zum Lebendgewicht von 500 kg. Dies ist mit dem üblicherweise höheren Fettanteil am Zuwachs bei steigendem Gewicht begründbar, welcher mehr Energie erfordert. Kalbinnen mit 600 kg zeigen im Versuch, offensichtlich durch die Trächtigkeit bedingt, wieder einen leichten Anstieg der Energieverwertung.

Die im Versuch festgestellten ME-Aufnahmen (MJ je Tag) sind in Abbildung 1 nach Gewichtsklassen aufgetragen und den aus den beschriebenen Ansätzen des Modells abgeleiteten ME-Mengen gegenüber gestellt. In Abbildung 2 wird der Sachverhalt auf der Ebene der Leistungsverwertung (Zunahme je Leistungs-ME) im Vergleich von Versuchsergebnissen und Modell gezeigt.

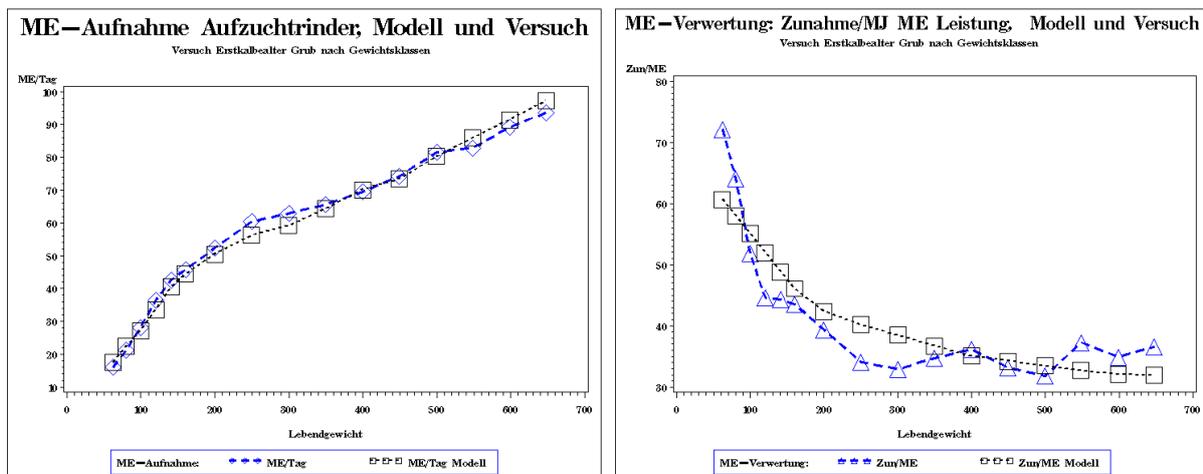


Abbildung 1 und 2: ME-Aufnahme und Leistungsverwertung bei Aufzuchtrindern

Verwertung der ME nach Höhe der Tageszunahme

Das vorgestellte Modell geht bei gleichem Lebendgewicht von einer konstanten Verwertung der ME für die Zunahme aus, unabhängig von der Leistungshöhe (Tageszunahme). Anders ausgedrückt wird der Energiebedarf je kg Zuwachs konstant gesetzt. Um zu prüfen, ob diese Voraussetzung hinreichend erfüllt ist, werden ME-Aufnahmen und Tageszunahmen innerhalb einer Gewichtsklasse betrachtet. Mit dieser Eingrenzung kann der Einfluss des Gewichtes auf Erhaltungsbedarf oder ME-Verwertung als vernachlässigbar angesehen werden.

In Abbildung 3 sind aus der Gewichtsklasse 400 kg (375 bis 425 kg Lebendgewicht) die Tageszunahmen in g der jeweiligen ME für die Leistung (ME-Aufnahme abzüglich Erhaltungsbedarf) der Einzeltiere zu geordnet. Damit ist der Erhaltungsbedarf ausgeschaltet. Es ist ein weiter Streubereich und nur ein loser Zusammenhang von Zunahme und Leistungs-ME ersichtlich. Da die Daten von Einzeltieren in jeweils 4-Wochen-Wiegeabschnitten stammen, sind solche Streuungen erklärlich. Werden auf diese Daten Regressionsgleichungen angewendet, sollen diese logischerweise durch den Nullpunkt (0 g Zunahme, 0 ME Leistung) gehen, also ohne Achsenabschnitt berechnet werden. In Abbildung 3 sind die gespiegelten linearen Gleichungen nach den Modellen Zunahme = ME Leistung und ME Leistung = Zunahme eingetragen. Der Anstieg der Linien beschreibt die Veränderung der Zunahme nach der ME Leistung, das ist nichts anderes als die angeführte ME-Verwertung aus den Versuchsdaten in der Gewichtsklasse. In Abbildung 4 ist die Zunahme nach dem besprochenen Modell aus den Leitpunkten eingefügt. Die hier hinterlegte ME-Verwertung ist aus den Mittenwerten von Zunahme und Leistungs-ME abgeleitet. Die eingetragene Zunahme nach Modell liegt zwischen den beiden Regressionen, in

denen die Variablen ausgetauscht sind. Da keine der beiden Variablen (Zunahme oder Leistungs-ME) als vorrangig bestimmend angesehen werden kann, erscheint die ME-Verwertung aus den Mittenwerten der Gewichtsklassen als sinnvolle Bestimmungsgröße angebracht.

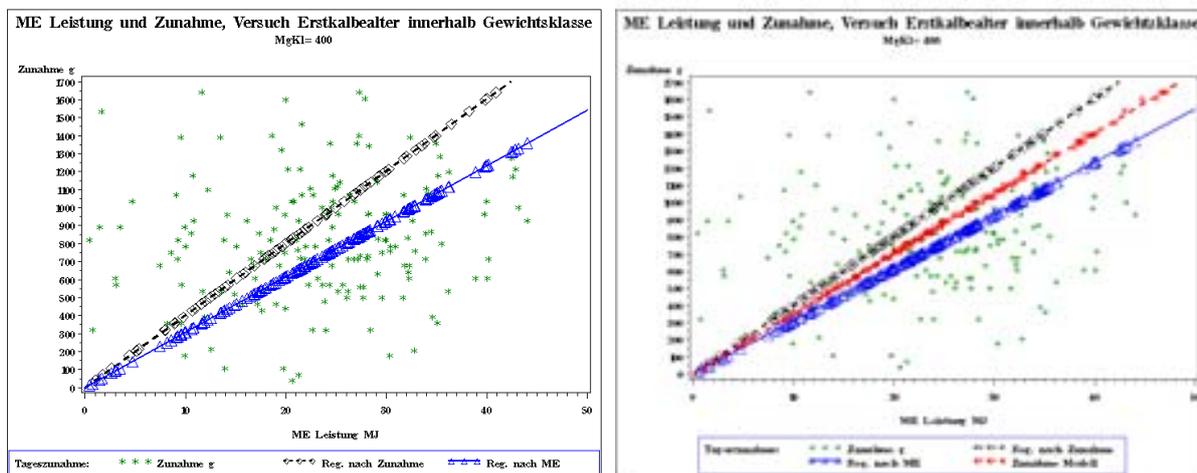


Abbildung 3 und 4: ME Leistung und Zunahme in einer Gewichtsklasse

Vergleich mit Bedarfswerten der GfE

Der Energiebedarf von Kälbern und Aufzuchtrindern wurde von der GfE (1997) faktoriell abgeleitet. In Abbildung 5 ist der ME-Bedarf nach GfE und dem vorgestellten Modell aufgezeigt. In Abbildung 6 ist die Verwertung der ME für die Leistung aus den GfE-Vorgaben mit den Leitpunkten verglichen.

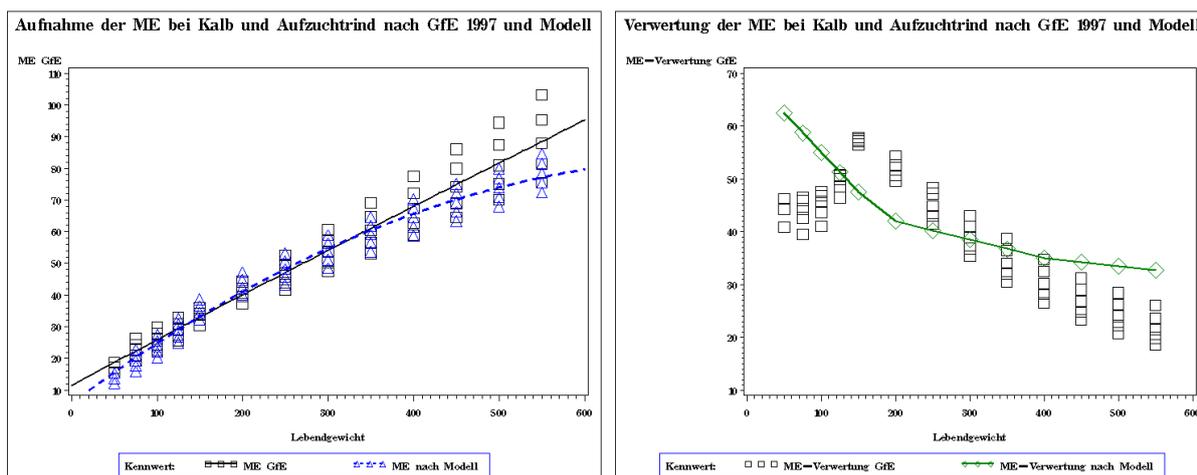


Abbildung 5 und 6: Aufnahme und Verwertung der ME nach GfE und Modell

Es zeigt sich, dass bei Kälbern bis etwa 100 kg Lebendgewicht mit dem Modell niedrigere ME-Aufnahmen sich ergeben, was sich auch in der Verwertung der Leistungs-ME (Abbildung 6) zeigt. In

diesem Bereich kann von einer günstigeren Ausnutzung der ME beim Kalb als Monogaster ausgegangen werden. In höheren Gewichtsbereichen ab etwa 400 kg werden im Modell ebenfalls niedrigere ME-Aufnahmen und günstigere ME-Verwertungen gegenüber den GfE-Angaben angesetzt. Aus den angeführten Versuchsergebnissen kann geschlossen werden, dass Aufzuchtrinder bei höherem Gewicht weniger Fett im Zuwachs ansetzen, als in den GfE-Ableitungen unterstellt. Dies könnte mit der üblicherweise energieärmeren Fütterung im zweiten Lebensjahr begründet sein, möglicherweise spielen auch hormonelle Einflüsse durch die Trächtigkeit mit.

Anwendung

Mit dem vorgeschlagenen Modell kann bei Aufzuchtkälbern und Aufzuchtrindern die Aufnahme an ME nach Gewicht und Zunahmeleistung beschrieben werden. Dazu wird der Erhaltungsbedarf ($0,53 \text{ MJ ME/W}^{0,75}$ ab 160 kg, darunter vermindert) errechnet, der Leistungsbedarf ergibt sich aus Tageszunahme geteilt durch die Leistungsverwertung (g Zunahme/MJ ME), welche nach Gewicht aus den Leitpunkten ermittelt wird.

Ein Beispiel mit 300 kg Lebendgewicht ergibt einen Erhaltungsbedarf von $0,53 * 300^{0,75} = 38,2 \text{ MJ ME/Tag}$, die ME-Verwertung wird mit 38,5 g Zunahme je MJ ME Leistung interpoliert. Bei einer Tageszunahme von 800 g sind dafür $800/38,5 = 20,8 \text{ MJ ME}$ erforderlich, was zu einer Gesamt-ME-Aufnahme von $38,2 + 20,8 = 59,0 \text{ MJ ME/Tag}$ führt.

Für die Nutzung in der Fütterungsberatung werden Richtwerte der Trockenmasse- und Grundfutteraufnahme angesetzt und die Werte in kontinuierlich anwendbare, linear-quadratische Funktionen nach Gewicht und Zunahme umgeformt. Es erscheint angebracht, die hier entwickelten Kennwerte (Leitpunkte) an weiteren Versuchsergebnissen sowie in der praktischen Beratung zu überprüfen.

Literatur

Ettle, T., Becher, V., Obermaier, A., Spiekers, H. (2011): Einfluss der Fütterungsintensität in der Jungrinderaufzucht auf die Futtermittel- und Gewichtsentwicklung bei Fleckvieh und Braunvieh (Brown Swiss). Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Tagungsunterlage, Beiträge der Veranstaltung vom 06. und 07.04.2011 in Fulda, 97-100

GfE (1997): Mitteilungen des Ausschusses für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie: Empfehlungen zur Energieversorgung von Aufzuchtkälbern und Aufzuchtrindern. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 6, 201-215

Rutzmoser, K., Ettle, T., Obermaier, A., Schuster, H. (2010): Ein Modell zur Beschreibung der Rohprotein- und ME-Aufnahme bei Mastbullen und Aufzuchtkälbern. Tagungsband 9. BOKU-Symposium Tierernährung, Wien 2010, 155-161

Autorenanschrift

Dr. Karl Rutzmoser, Dr. Thomas Ettle
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub
Prof.-Dürrwaechter-Pl. 3, 85586 Poing
E-Mail: Karl.Rutzmoser@LfL.bayern.de

Einsatz von Pressschnitzelsilage in der Mastrinderfütterung

Julia Trautwein¹, Katja Schiel¹, Christian Koch², Christine Potthast³ und Georg Dusel¹

¹ University of Applied Sciences Bingen

² Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung, Hofgut Neumühle, Münchweiler

³ Südzucker AG Mannheim/Ochsenfurt

Einleitung

Seit den 1980er Jahren werden Pressschnitzel in großem Umfang in der Fütterung eingesetzt. Ihren erfolgreichen Einsatz in der Mastrinderfütterung dokumentieren zahlreiche Veröffentlichungen (Burgstaller et al. 1982; Gaede, 1982; Kamphues et al. 1983). Die DLG-Futterwerttabellen (1997) weisen für Pressschnitzelsilage einen Trockenmassegehalt von 22 % aus. In den vergangenen Jahren wurden in Deutschland jedoch auch Pressschnitzel mit einer Trockenmasse (TM) von 28 % und darüber vermarktet, in Abhängigkeit von den technischen Gegebenheiten der Werke und der lokalen Absatzmärkte (Potthast et al. 2011). Mit diesen hohen TM-Gehalten und Rohproteingehalten (XP) von 89 % in der TM sind Pressschnitzel durchaus mit Maissilage vergleichbar. Die Energiekonzentration von 11,9 MJ ME je kg TM ist sogar noch höher als in Maissilage.

Die Einsatzmengen von Pressschnitzeln in der Bullenmast differieren stark. Aktuelle Empfehlungen sehen Anteile bis etwa 20 % in der Rationstrockenmasse (LfL, 2011) bei anteiligem Austausch gegen Maissilage vor. Gaede (1981) ersetzte die Maissilage vollständig durch Pressschnitzel und konnte zusätzlich noch den Kraftfutteranteil der Pressschnitzelgruppe senken, wobei die täglichen Zunahmen der Pressschnitzelgruppe mit 1320 g über der Maisgruppe mit 1281 g lagen.

Pressschnitzel haben in der Milchkuhfütterung positive Effekte auf die Pansenfermentation mit einem Minderungspotenzial für subklinische Pansenazidosen (SARA), wenn sie in hohen Anteilen gegen stärkehaltige Futtermittel ausgetauscht werden (Boguhn et al., 2010). Auch bei Mastbullen (Nagaraja und Titgemeyer, 2007) gibt es deutliche Hinweise auf SARA bei Verfütterung hoher Kraftfutteranteile bzw. Stärkemengen. Wenngleich Pressschnitzel in der Mastbullenfütterung ein hohes Leistungspotenzial haben, lässt sich aus den bisherigen Versuchen nicht eindeutig auf ein gleichzeitiges Minderungsvermögen von SARA schließen. Allerdings gibt es in diesem Zusammenhang durch höhere TM-Aufnahmen der mit Pressschnitzel gefütterten Tiere (Burgstaller, et al. 1982; Gaede 1982) durchaus indirekte Hinweise auf Effekte durch Pressschnitzelfütterung.

Ziel des Fütterungsversuches an der Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung, Hofgut Neumühle war die Überprüfung des Einsatzes von hohen Anteilen an Pressschnitzelsilage im Austausch gegen Maissilage in der Bullenmast mit der Erfassung der Leistungs- und Schlachtparameter und Merkmalen der Pansenfermentation. Im Versuch wurden Pressschnitzelanteile von 50 bis 70 % in der Rationstrockenmasse verfüttert.

Material und Methoden

Tiere und Aufstallung

Insgesamt 32 Fleckviehbulen wurden gleichmäßig auf zwei Fütterungsgruppen (Pressschnitzel und Kontrolle) aufgeteilt. Das mittlere Anfangsgewicht beider Gruppen lag im Mittel bei je 292 kg Lebendmasse. Die Tiere wurden in 4er Gruppen auf Vollspaltenboden gehalten.

Versuchsdesign/Fütterung

Der Versuch erstreckte sich über etwa 212 Masttage im Gewichtsbereich zwischen 290 und 660 kg. Die beiden Gruppen unterschieden sich lediglich im Hinblick auf ihre Versuchsdiet. Beide Gruppen erhielten eine totale Mischration (TMR) ab libitum, die durch einen Futtermischwagen vorgelegt wurde. Während die Kontrollgruppe eine auf Maissilage basierte Ration erhielt, wurde in der Gruppe „Pressschnitzel“ die Maissilage zu etwa 90% durch Pressschnitzelsilage ersetzt. Die verfütterte Pressschnitzelsilage hatte einen Trockenmassegehalt von 35,4% und lieferte 12 MJ ME/kg TM, 82 g Rohprotein/kg TM, 144 g nXP/kg TM und einen Rohfasergehalt von 180 g/kg TM. Die anteilige Zusammensetzung (i.d.TM) der Rationen ist in Tab. 1 dargestellt. Die Tiere wurden 2-phasig gefüttert. Ab einem mittleren Gewicht von 550 kg Lebendmasse wurden sie auf die Endmastrationen umgestellt.

Tabelle 1: Zusammensetzung und Inhaltsstoffe der Versuchsrationen

<i>Komponenten</i>	Mittelmast (290-550 kg LM)		Endmast (ab 550 kg LM)	
	Kontrolle (MS)	Pressschnitzel (PS)	Kontrolle (MS)	Pressschnitzel (PS)
	<i>Anteil (in % d. TM)</i>			
Maissilage	58,4	9,7	76,9	7,4
Pressschnitzel	-	51,3	-	70,8
Heu	6,2	6,2	4,7	4,8
Weizen/Gerste	12,8	12,7	5,8	6,8
Rapsextraktionsschrot	19,2	15,6	9,6	8,0
Salz	0,4	0,4	0,1	-
Harnstoff	0,4	0,4	1,1	1,1
Kalk	1,2	2,2	0,8	-
Mineralfutter	1,4	1,4	1,0	1,1
<i>Analysierte Inhaltsstoffe (nach Weender, VDLUFA-Methode)</i>				
Trockenmasse (g/kg FM)	441	424	389	403
Energie (MJ ME/kg TM)*	11,2	11,7	11,2	11,8
Rohfaser (g/kg TM)	154	170	154	168
Rohprotein (g/kg TM)	159	154	136	142
RNB (g/Tag)	1	-3	-6	-8

*errechnet nach DLG Futterwerttabellen (DLG,1997)

Datenerfassung Leistungsparameter Analysen / Auswertung

Die Analyse der Rohnährstoffe erfolgte nach Weender-Analyse (Naumann et al. 1997) im Labor der FH Bingen. Die MJ ME wurde nach der Formel der GfE 1995 zur Berechnung der Energie aus den Rohnährstoffgehalten und tabellierten Verdauungsquotienten berechnet (DLG, 1997).

Die Tiergewichte wurden monatlich tierindividuell erfasst. Die Futteraufnahme errechnete sich durch Ein- und Rückwaage täglich je Bucht. Somit konnte auch der Futteraufwand pro Bucht (4 Tiere/Bucht) errechnet werden.

An Versuchstag 107 bei einer mittleren LM von ca. 500 kg wurde bei 5 Tieren je Variante Pansensaft über Rumenozentese entnommen. Die Entnahmetechnik sowie die Praxistauglichkeit wurde bereits von Trautwein et al. (2009) beschrieben. Die LUFA Speyer bestimmte die flüchtigen Fettsäuren. Die statistische Auswertung erfolgte mit einem zweiseitigen T-Test ($p < 0,5$) (Microsoft Excel).

Ergebnisse

Leistungsparameter

In beiden Mastabschnitten gab es keine Unterschiede in Trockenmasseaufnahme, Rohprotein- und Energieaufnahme zwischen den Versuchsgruppen (Tab. 2). Den etwas höheren Energiegehalt der TMR mit Pressschnitzelsilage um ca. 0,5 MJ ME bzw. 4,3% kompensierten die Tiere der Maissilagegruppe in der Mittelmast durch eine leicht erhöhte Trockenmasseaufnahme. Dadurch erreichten beide Gruppen eine vergleichbare Energieaufnahme von 110 bzw. 111 MJ ME pro Tier und Tag. In der Endmast waren keine Unterschiede in der TM-Aufnahme erkennbar.

Es gab keine signifikanten Unterschiede in der Gewichtsentwicklung der beiden Versuchsgruppen (Tab. 3). Wie bereits bei Gaede (1981) beschrieben, wurden auch in diesem Versuch mit hohen Einsatzmengen von Pressschnitzelsilage hohe Wachstumsleistungen erzielt. Im gesamten Mastabschnitt von 290 bis 660 kg lag die Tageszunahme der Kontrollgruppe bei 1752g, die mit Pressschnitzelsilage gefütterten Tiere erreichten 1792g.

Durch den um 5 g/kg TM geringeren Rohproteingehalt in der PS-Mittelmastration sowie den um 70 g höheren Tageszunahmen der mit Pressschnitzelsilage gefütterten Tiere, errechnete sich eine signifikant geringere XP-Aufnahme pro kg Lebendmassezuwachs. Auch wenn sich dieser Effekt nicht mehr in der Endmast zeigte, so war er dennoch über die gesamte Versuchsphase zu verzeichnen.

Die mit Pressschnitzelsilage gefütterten Tiere wiesen mit 54,4% (+/- 1,5) eine signifikant ($p=0,015$) höhere Ausschachtung auf gegenüber den Kontrolltieren mit 53,1% (+/- 1,2). Die Schlachtkörper der Bullengruppe Pressschnitzel wurden zu 47% der Fleischigkeitsgruppe U (sehr gut) und zu 53% der Klasse R (gut) zugeordnet. In der Fettgewebssklasse wurde im Mittel aller Tiere dieser Gruppe eine 2,1 (geringe Fettabdeckung) vergeben. Die Kontrolltiere wurden zu 13% der Fleischigkeitsklasse U (sehr gut) und zu 87% der Klasse R (gut) zugeordnet. Auch diese Tiere wurden noch mit einer geringen Fettabdeckung, im Mittel mit 2,4, bewertet.

Tabelle 2: Trockenmasse-, Rohprotein- und Energieaufnahme in den Mastabschnitten

Aufnahme/ Tier/Tag	Mittelmast			Endmast			Gesamtmast		
	MS	PS	p-Wert	MS	PS	p-Wert	MS	PS	p-Wert
TM (kg)	\bar{x} 9,82 <i>s</i> 0,65	9,48 0,50	0,443	11,37 1,30	11,53 0,91	0,847	10,39 0,83	10,23 0,59	0,764
XP (g)	\bar{x} 1561 <i>s</i> 104	1456 76	0,159	1743 199	1733 137	0,939	1628 129	1557 90	0,407
Energie (MJ ME)	\bar{x} 110 <i>s</i> 7	111 6	0,876	128 15	134 11	0,528	116 9	119 7	0,663
XP/ME (g/MJ)	\bar{x} 14,2	13,2		13,7	13,0		14,0	13,1	

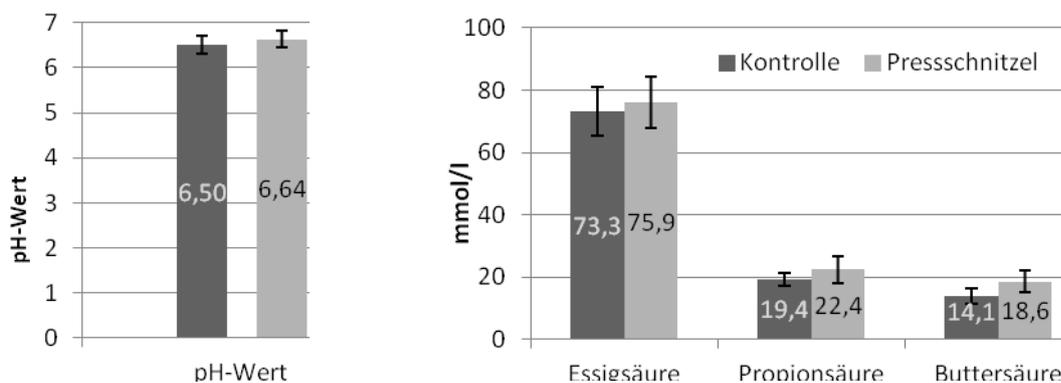
Tabelle 3: Gewichtsentwicklung sowie Energie- und Proteinverwertung in den Mastabschnitten

	Mittelmast			Endmast			Gesamtmast		
	MS	PS	p-Wert	MS	PS	p-Wert	MS	PS	p-Wert
Tageszunahme (g)	\bar{x} 1905 <i>s</i> 186	1976 164	0,262	1512 186	1469 169	0,517	1752 123	1792 120	0,369
XP-Aufnahme (g)/kg Zuwachs	\bar{x} 821 <i>s</i> 49	737 29	0,033	1157 144	1187 89	0,742	925 30	868 22	0,025
ME-Aufnahme /kg Zuwachs	\bar{x} 57,8 <i>s</i> 3,5	56,0 2,2	0,417	84,8 10,5	91,6 6,9	0,327	66,2 2,2	66,4 1,7	0,886

MS: Maissilage; PS: Pressschnitzelsilage

Pansenphysiologische Parameter

Um die Auswirkungen der beiden Versuchsdiäten bei praxisüblicher Darreichung (ad libitum) hinsichtlich der pansenphysiologischen Parameter zu untersuchen, wurde während der Mittelmast von 5 Tieren pro Gruppe Pansensaft entnommen. Weder die pH-Wert-Messung noch die Analyse der flüchtigen Fettsäurezusammensetzung zeigten signifikante Gruppenunterschiede (Abb. 1). Der pH-Wert von 6,5 in der Kontrollgruppe und 6,6 in der Versuchsgruppe lag in einem physiologischen Bereich, was mit den moderaten Kraftfutteranteilen der Versuchsrationen zu erklären ist. Die Tiere wurden vor der Entnahme nicht genüchert, d.h. sie erhielten praxisüblich die TMR ad libitum. Das Verhältnis von Essigsäure zu Propionsäure lag in der Kontrollgruppe bei 1:3,8 in der Gruppe mit PS-Fütterung etwas enger bei 1:3,4. Die PS-Gruppe zeigte gegenüber der Kontrolle leicht erhöhte Gesamtmengen an flüchtigen Fettsäuren.


Abbildung 1: pH-Wert sowie Konzentration der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft an Versuchstag 107

Zusammenfassung

Ca. 90% der Maissilagemenge in der Kontrollration wurde für die Versuchsration durch Pressschnitzelsilage (TM-Gehalt 35%) ersetzt. In der PS-Ration konnten ferner ca. 20% der Rohproteinträger, hier in Form von Rapsextraktionsschrot, eingespart werden.

Durch den Einsatz von 50 - 70% Pressschnitzelsilage in der TMR (bezogen auf TM) konnten im Gewichtsbereich zwischen 290 und 560 kg Lebendmasse ein hohes Niveau der Lebendmasseentwicklung mit knapp 1800 g Tageszunahme (TZ) erzielt werden. Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit einer mittleren TZ von 1752 g, die eine auf Maissilage basierte Ration erhielt, erreichten die mit Pressschnitzelsilage gefütterten Tiere Zunahmen von 1792 g pro Tag.

In der Futteraufnahme und Energieeffizienz zeigten sich keine Unterschiede im Hinblick auf die Behandlung. Durch ein engeres Protein : Energie-Verhältnis der Pressschnitzel-Ration (14:1 gegenüber 13,1:1 in der Kontrolle) errechnete sich ein signifikant geringerer Rohproteinaufwand je kg Lebendmassezuwachs.

Mit 54,4% erzielte die Pressschnitzel-Gruppe eine signifikant höhere Ausschachtung gegenüber den Kontrolltieren mit 53,1%. Während in der Versuchsgruppe 47% der Tiere mit U (=sehr gute Fleischigkeit) klassifiziert wurden konnten lediglich 13% der Kontrolltiere diese Klasse erreichen. Die beiden Gruppen zeigten keine Unterschiede bei den untersuchten Merkmalen der Pansenfermentation. Der pH-Wert von 6,5 in der Kontrollgruppe und 6,6 in der Versuchsgruppe lag in einem physiologischen Bereich.

Auch mit hohen Einsatzmengen von 50 - 70% Anteil Pressschnitzelsilage (i.d.TM) können hohe Mastleistungen bei guter Schlachtleistung erreicht werden.

Literatur

- Boguhn, J.; Kluth, H.; Bulang, M.; Engelhard, T.; Rodehutscord, M. (2010): Effects of pressed beet pulp silage inclusion in maize-based rations on performance of high-yielding dairy cows and parameters of rumen fermentation. *Animal*. 4: 30-39
- Burgstaller, G.; Mader, K.; Huber, A.; Fusseseder, J. (1982): Zuckerrüben-Preßschnitzel-Silage in der intensiven Jungbullmast. *Bayer. Landw. Jahrbuch*. 59. 876-885
- Dayen, M.(1982): Untersuchungen zu Einflussfaktoren auf die Pressschnitzelaufnahme in der Bullenmast. Diss. TiHo Hannover
- DLG, 1997: DLG-Futterwerttabelle für Wiederkäuer, 7. Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt am Main
- Gaede, E.A. (1981): Silierte Preßschnitzel: Ein vorzügliches Futter für das Rindvieh. *Rheinische Bauernzeitung*. 36. 10
- Gaede, E.A: (1982) Silierte Preßschnitzel ersetzen Kraftfutter. *Rheinische Bauernzeitung*. 3. 28
- Kamphues, J.; Dayen, M.; Meyer, H. (1983): Silage aus unterschiedlich melassierten Preßschnitzeln in der Rindermast. *Wirtschaftseig. Futter*. 29. 110-127
- LfL Bayer. Landesanstalt für Landwirtschaft (2011): Gruber Tabelle zur Fütterung in der Rindermast. 16. Auflage
- Nagaraja, T. G.; Titgemeyer, E. C. (2007): Ruminant Acidosis in Beef Cattle: The Current Microbiological and Nutritional Outlook. *J. Dairy Sci.* 2007. 90 (E Suppl.): E17-E38
- Naumann, C., Bassler, R., Seibold, R., Barth, C. (1997): Methodenbuch Band 3: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- Pothast, C.; Brinker, S.; Maier, K. (2011): Futtermittel aus der Zuckerrübenverarbeitung – neue Daten zu Inhaltsstoffen aus einer bundesweiten Erhebung. *Zuckerindustrie*. 136 (10). 663-669
- Trautwein, J., Dusel, G., Hlawitschka, B., Landfried, K. (2009): Einsatz einer Stroh-Kraftfutter-Ration in der Mastrinderfütterung, Tagungsband Forum angewandte Forschung 2009, 54-57

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

Ist der Futterwert von DDGS mit dem von Sojaextraktionsschrot in der Stiermast vergleichbar?

Günther Wiedner¹, Josef Kraushofer², Tatjana Figl-Wolfsberger³ und Rudolf Leitgeb⁴

¹ NÖ Landeslandwirtschaftskammer, St. Pölten

² Versuchsbetrieb, Kraushofer Josef, Karlstetten

³ AGRANA Bioethanol GmbH, Pischelsdorf

⁴ Eckpergasse 2/6, 1180 Wien

Einleitung

Die im Stiermastversuch eingesetzte DDGS (Handelsbezeichnung ActiProt[®]) fällt bei der Gewinnung von Bioethanol aus Getreide (vorwiegend Mais und Weizen) der Firma AGRANA, A-3435 Pischelsdorf, als Nebenprodukt an. ActiProt[®] ist GVO-frei, wird in pelletierter Form angeboten und weist einen Proteingehalt von 32 % auf.

Im vorliegenden Rindermastversuch wurde im Eiweißergänzungsfutter (EEF) der Versuchsgruppe das Eiweiß des Sojaextraktionsschrotes vollständig durch ActiProt[®]-Eiweiß ersetzt. Der Versuch wurde mit Fleckvieh-Maststieren auf einem praxisüblichen Rindermastbetrieb in Niederösterreich durchgeführt und der Einfluss auf die Mast- und Schlachtleistung untersucht.

Literatur

Untersuchungen mit DDGS an Rindern wurden u. a. 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 DDGS aus Weizen und Gerste mit und ohne L-Lysinergänzung im Vergleich zu Rapsextraktionsschrot in der Fresseraufzucht über 15 Wochen eingesetzt. Als Einsatzmenge werden nur 0,5 kg Trockenschlempe je Tier und Tag empfohlen. Mit einem Ersatz von 50 % des Eiweißes des Sojaextraktionsschrotes durch ActiProt[®]-Eiweiß im EEF wurden von Leitgeb et al. (2010) und mit 100 % wurden von Wiedner et al. (2011) sehr gute Mast- und Schlachtleistungsergebnisse an Fleckviehmaststieren erzielt. Im ersten Mastabschnitt wurden in beiden Versuchen geringere Tageszunahmen festgestellt, die aber im zweiten Mastabschnitt völlig kompensiert wurden. Die tägliche Aufnahme an ActiProt[®] betrug im Versuch von Leitgeb et al. (2010) 0,95 kg und im Versuch von Wiedner et al. (2011) 1,97 kg je Tier und Tag.

Versuchsdurchführung

Der Versuch wurde im März 2009 gestartet und im Februar 2011 abgeschlossen. 8 Stierkälber der Rasse Fleckvieh wurden 4 Mal in 7-wöchigen Abständen angekauft und nach einer 4 bis 5 wöchigen Vorperiode nach Gewicht und Alter auf 2 Boxen aufgeteilt. In der Vorperiode wurden die Kälber unter gleichen Bedingungen mit Milchaustauschfutter, Heu, Maissilage und EEF mit 20 % ActiProt[®] gefüttert. In der Versuchsperiode wurden die Tiere täglich zweimal gefüttert. Maissilage wurde ad libitum und 2,5 kg EEF je Tier und Tag vorgelegt. Das EEF wurde auf dem Versuchsbetrieb nach den Rezep-

turen in Tabelle 2 gemischt. Die Boxenböden waren als Spaltenboden ausgeführt. Die Tiere wurden bei Versuchsbeginn, am Ende des 1. Mastabschnittes und am Mastende gewogen. Die Aufnahme an Maissilage wurde an jeweils 3 geschlossenen Tagen/Monat boxenweise und am Schlachthof wurde die LM nüchtern, das Schlachtgewicht kalt, die Handelsklassen für die Fleischigkeit und das Fettgewebe von jedem Masttier erhoben. 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 beurteilt. Bei den Fettgewebeklassen wird eine sehr geringe mit 1 und eine sehr starke Verfettung mit 5 bewertet.

Tabelle 1: Versuchsplan

Merkmale	Futtergruppe	
	KG	VG
Tiere, n	16	16
Boxen, n	4	4
ActiProt® im EEF	-	+
Mastabschnitt 1, Tage	196	
Mastabschnitt 2, Tage	202	
Fütterung	ad libitum	
Maissilage	2,50	
EEF, kg/Tier/Tag	monatlich über 3 Tage, boxenweise	
Erhebung der Aufnahme der Maissilage		
Wiegung der Tiere	Versuchsbeginn	
1. Wiegung	Ende des 1. Mastabschnittes	
2. Wiegung	vor der Schlachtung im Schlachthof	
3. Wiegung		

Tabelle 2: Eiweißergänzungsfutterkomponenten

Futterkomponenten	KG	VG
ActiProt®, %	-	75
Sojaextraktionsschrot hp, %	48,0	-
Körnermais, %	48,3	21,3
Garant Rimin Mast B ¹⁾ , %	3,00	3,00
Futterkalk, %	0,60	0,70
Viehsalz, %	0,10	-

¹⁾ Deklarierte Gehaltswert: 21,0 % Ca, 6,0 % Na, 3,0 % P, 5,0 % Mg, ernährungsphysiologische Zusatzstoffe je kg: 400000 I.E. Vitamin A, 80000 I.E. Vitamin D₃, 3000 mg Vitamin E, 400 mg Vitamin B₁, 1900 mg Fe, 960 mg Cu, 7200 mg Zn, 2400 mg Mn, 128 mg J, 31,7 mg Co, 19,2 mg Se

Futteranalysen: Bei den Futteraufnahmeerhebungen wurden jeweils eine Probe von der Maissilage und vom EEF der KG und VG zur Untersuchung auf „Einfache Weender-Analyse für Wiederkäuer“ und Mengenelemente an das FM-Labor Rosenau, A-3252 Petzenkirchen, geschickt.

Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte varianzanalytisch mit dem Computer Programm ANOVA SigmaStat® Version 3.5.

Y_{ijk} = $\mu + FG_i + WH_j + e_{ijk}$
 Y_{ijk} = Untersucher Parameter
 μ = Gemeinsame Konstante
 FG_i = Fixer Effekt der Futtergruppe; $i = 1$ (KG), 2 (VG)
 LM_j = Fixer Effekt der Wiederholung (Einstellungstermine) j , $j = 1, 4$
 e_{ijk} = Residue

SEM = Standard error of means

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Futteranalysen sind in Tabelle 3 angeführt. ActiProt[®] wurde zweimal angeliefert. Die Analyseergebnisse des ActiProt[®] entsprachen gut den Angaben der Herstellerfirma und das EEF der KG und VG wiesen übereinstimmende Gehaltswerte auf.

Tabelle 3: Analyseergebnisse der Einzelfuttermittel

Nährstoff	ActiProt [®]	Maissilage	EEF-KG	EEF-VG
Analysen, n	2	19	19	19
TM, g/kg	917	406	880	895
ME, MJ/kg	11,93	4,39	11,49	11,44
XP, g/kg	327	23	260	259
nXP, g/kg	257	51	217	221
RNB, g/kg	11	-4,6	6,9	6,2
Ca, g/kg	1,4	0,7	10,7	9,2
P, g/kg	8,8	0,9	5,7	7,3
Na, g/kg	4,7	0,05	2,4	3,5

Ein Tier der KG wurde wegen einer starken Fußverletzung und ein zweites als Kümmerer ausgeschieden. In der VG gab es keine Ausfälle. Die LM bei Versuchsbeginn lag in der KG bei 164 kg und in der VG bei 165 kg (Tabelle 4). Die LM bei Mastende lag in der KG bei 680 und in der VG bei 682 kg. Im 1. Mastabschnitt war der LM-Zuwachs in der KG geringfügig höher und im 2. Mastabschnitt der der VG. Über die ganze Mastperiode wurden in der KG 1300 g und in der VG 1302 g Tageszuwachs ermittelt.

Tabelle 4: Mastleistungsergebnisse: LM-Entwicklung und Tageszuwachs

Merkmale	KG	VG	SEM	P-Wert
Tiere, n	16	16	-	-
Ausfälle, n	2	0	-	-
Boxen, n	4	4	-	-
	LM-Entwicklung			
Alter bei Versuchsbeginn, Tage	127	131	2	0,259
LM bei Versuchsbeginn, kg	164	165	4	0,815
LM am 196. Masttag, kg	431	426	10	0,739
LM nüchtern (Mastende), kg	680	682	18	0,937
	Tageszuwachs, g			
1. Mastabschnitt	1361	1331	47	0,656
2. Mastabschnitt	1239	1274	54	0,655
Mastperiode	1300	1302	40	0,968

Tabelle 5: Mastleistungsergebnisse: Maissilage- und Nährstoffaufnahme

Merkmale	KG	VG	SEM	P-Wert
Maissilage- und Nährstoffaufnahme je Tier und Tag vom 1. bis 196. Masttag				
Maisilage, kg	12,3	12,8	0,7	0,631
ME, MJ	80,6	82,9	3,1	0,603
XP, g	910	928	18	0,484
nXP, g	1142	1184	37	0,422
rNB	-36	-40	3,2	0,394
Ca, g	34,5 ^a	31,8 ^b	0,6	0,004
P, g	24,4 ^a	29,4 ^b	0,8	<0,001
Na, g	6,3 ^a	9,9 ^b	0,4	<0,001
Nährstoffaufnahme je kg LM-Zuwachs vom 1. bis 196. Masttag				
ME, MJ	59,2	62,4	1,6	0,252
XP, g	670	701	14	0,213
nXP, g	839	892	20	0,161
rNB	-26	-30	1,3	0,157
Ca, g	25,4	24,0	0,5	0,151
P, g	18,0 ^a	22,3 ^b	0,9	0,041
Na, g	4,7	7,5	0,7	0,067
Maissilage- und Nährstoffaufnahme je Tier und Tag vom 197. bis 398. Masttag				
Maisilage, kg	20,9	21,5	0,5	0,372
ME, MJ	118,6	120,8	2,4	0,521
XP, g	1114	1131	15	0,425
nXP, g	1581	1623	28	0,289
rNB	-76	-80	2,7	0,304
Ca, g	41,4 ^a	37,0 ^b	0,7	<0,001
P, g	31,5 ^a	37,4 ^b	0,6	<0,001
Na, g	6,0 ^a	10,2 ^b	0,3	<0,001
Nährstoffaufnahme je kg LM-Zuwachs vom 197. bis 398. Masttag				
ME, MJ	96,1	95,8	5,8	0,975
XP, g	902	896	43	0,928
nXP, g	1281	1288	73	0,948
rNB	-62	-64	4,9	0,790
Ca, g	33,5	29,3	1,7	0,174
P, g	25,5	29,7	1,5	0,136
Na, g	4,8 ^a	8,1 ^b	0,4	0,009
Maissilage- und Nährstoffaufnahme je Tier und Tag vom 1. bis 398. Masttag				
Maisilage, kg	16,6	17,2	0,5	0,380
Maissilage-TM, kg	6,6	6,8	0,2	0,399
ME, MJ	99,5	101,8	2,1	0,422
XP, g	1011	1029	12	0,302
nXP, g	1360	1403	24	0,210
rNB	-56	-60	2,3	0,205
Ca, g	38 ^a	34 ^b	0,5	<0,001
P, g	28 ^a	33 ^b	0,5	<0,001
Na, g	6,2 ^a	10,1 ^b	0,3	0,001
Nährstoffaufnahme je kg LM-Zuwachs vom 1. bis 398. Masttag				
ME, MJ	77,6	79,1	3,3	0,757
XP, g	786	798	26	0,743
nXP, g	1060	1090	42	0,623
rNB	-44	-47	3,2	0,549
Ca, g	29	27	1,0	0,066
P, g	22 ^a	26 ^b	0,9	0,007
Na, g	4,7 ^a	7,8 ^b	0,4	<0,001

Der Verzehr an Maissilage war in der 1. und 2. Mastperiode in der VG um etwa 1 bis 1,5 kg höher als in der KG (Tabelle 5). Dies spiegelt sich auch in der täglichen Nährstoffaufnahme wider. Die ruminale N-Bilanz war in beiden Futtergruppen relativ hoch negativ. Die Differenzen in der täglichen Nährstoffaufnahme und im Umsatz je kg LM-Zuwachs zwischen den Futtergruppen sind sehr gering, so dass man beide EEF hinsichtlich des Futterwertes als gleichwertig bezeichnen kann.

In Tabelle 6 sind die Ergebnisse der Schlachtleistung und Schlachtkörperqualität angeführt. Die hohen Ausschachtungs-% sind auf die hohen Mastendgewichte und den hohen Ausmästgrad zurückzuführen. Die Schlachtleistungsergebnisse, sowie die im sehr günstigen Bereich liegenden Ergebnisse der Fleischigkeits- und Fettgewebeklassen in beiden Futtergruppen, untermauern die gute Eignung von ActiProt® als eiweißreiches Futtermittel für Masttiere.

Tabelle 6: Schlachtleistung und Schlachtkörperqualität

Merkmale	KG	VG	SEM	P-Wert
Tiere, n	15	15	-	-
Schlachtgewicht kalt, kg	397,9	398,1	10,5	0,988
Ausschlachtungs-%	58,6	58,4	0,3	0,727
Fleischigkeitsklasse (EUROP)	2,2	2,3	0,1	0,685
Fettgewebeklasse, Klassen	2,2	2,2	0,1	1,000

Diskussion

Die Hinweise von Van Horn et al. (1985), Spiekers et al. (2006) und Chrenková et al. (2008) für eine differenzierte Bewertung der DDGS nach dem Ausgangsmaterial und dem Verfahren der Ethanolproduktion sind beim Einsatz in der Fütterung zu berücksichtigen. Von Eittle et al. (2011) wurde eine DDGS aus Weizen und Gerste mit und ohne L-Lysinergänzung in der Fresseraufzucht über 15 Wochen mit 0,5 kg je Tier und Tag begrenzt. Von Leitgeb et al. (2010) wurden mit 50 %igem und von Wiedner et al. (2011) mit 100 %igem Ersatz des Sojaextraktionsschroteiweißes durch ActiProt®-Eiweiß im EEF im ersten Mastabschnitt geringere und im zweiten höhere Tageszunahmen erzielt. Die im vorliegenden Versuch im ersten Mastabschnitt erzielten Tageszunahmen stimmen mit den Ergebnissen von Leitgeb et al. (2010) und Wiedner et al. (2011) gut überein. Sie wurden wie im Versuch von Leitgeb et al. (2010) und Wiedner et al. (2011) im gegenständlichen Mastversuch im zweiten Mastabschnitt völlig kompensiert, so dass der über das Grundfutter hinausgehende Proteinbedarf von Masttieren über DDGS aus Mais und Weizen erfolgreich gedeckt werden kann.

Zusammenfassung

In einem Stiermastversuch mit 32 Fleckviehstierkälbern (16 Tiere je Futtergruppe (KG, VG)) wurde im Eiweißergänzungsfutter das Eiweiß des Sojaextraktionsschrotes (KG) vollständig durch Eiweiß aus ActiProt® (VG) ersetzt. Die Kälber der KG waren bei Versuchsbeginn 164 kg und in der VG 165 kg schwer und die LM nüchtern bei Mastende lag in der KG und VG bei 680 und 682 kg. Die Mastdauer betrug 398 Tage. 2 Tiere der KG wurden ausgeschieden. Die Tagesrationen setzten sich aus Maissilage (40 % TM) ad libitum und 2,5 kg Eiweißergänzungsfutter mit 26 % Rohprotein zusammen. Der mittlere LM-Zuwachs über die ganze Mastperiode lag in der KG bei 1300 g und in der VG bei 1302 g. Der Aufwand an umsetzbarer Energie (ME) und Rohprotein pro kg LM-Zuwachs betrug in der KG 78 MJ und 786 g und in der VG 79 MJ und 798 g. Die Ausschachtung betrug in der KG 58,6 und in der VG 58,4 %. Die mittleren Fleischigkeits- und Fettgewebeklassen der Schlachtkörper lagen in bei-

den Futtergruppen im optimalen Bereich. Die Versuchsergebnisse weisen auf sehr günstige Einsatzmöglichkeiten von ActiProt® in der Stiermast hin.

Summary

(Is the feed value of DDGS comparable with soybean meal for growing bulls?)

In a growing trial with 32 Simmental bulls (8 pens with a ´ 4 Simmental bulls), the impact of soybean meal (KG) and DDGS (ActiProt®, DDGS of wheat and maize, produced of AGRANA, A-3435 Pischelsdorf, Austria, VG) as single rich protein resources in protein concentrate on growth and slaughter performance were investigated. 2 bulls of the control group were eliminated. Maize silage was fed ad libitum. 2.5 kg protein concentrate with 48 % soybean meal hp (KG) and with 75 % ActiProt® (VG) per animal and day were offered. The rest components of the protein concentrate were corn, vitamin-trace element premix, calcium carbonate and salt. The nutrient content of ActiProt® was: 91 % DM, 11.9 MJME/kg, 33 % protein, 0.14 % Ca, 0.88 % P, and 0.47 % sodium. The LW at the start and end of the growth period was in the feeding group KG 164 and 680 kg and in the feeding group VG 165 and 682 kg. The average daily LW-gain of KG was 1300 g and of VG 1302 g. The average intake of ME and protein per kg LW-gain was in the KG 77.6 MJ und 786 g and in the VG 79.1 MJ und 798 g. The dressing-% in KG was 58.6 and in VG 58.4. The commercial meat and fat classes in the KG were 2.2 and 2.2, and in the VG 2.3 and 2.2. 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 protein with good success.

Literatur

- Chrenková, M., Z. Čerešňáková, Z. Mlyneková, P. Flák, M. Poláčiková and A. Tomiková, 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. and D. K. Beede, 1985: Interaction of protein percent with caloric density and protein source for lactating cows. J. Dairy Sci. 68, 1682-1695
- Wiedner, G., Tatjana Figl-Wolfsberger, J. Hirschböck und R. Leitgeb, 2010: Kann Sojaextraktionsschrot im Eiweißergänzungsfutter für die Stiermast durch DDGS vollständig ersetzt werden? 10. BOKU-Symposium Tierernährung. Tagungsband, S 50-55

Autorenanschrift

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

ActiProt®

EIWEISSFUTTER !

Es gibt viele Schlempen.
Sie sind alle verschieden.

Und es gibt ActiProt®.

Wissen, WAS man füttert!

AGRANA -
größter Einzelfuttermittelproduzent
ÖSTERREICHs!

WWW.ACTIPROT.AT



Nutritional value of rye hybrid and its use in nutrition of ruminants

Zuzana Formelová, Mária Chrenková, Zuzana Čerešňáková, Ľubica Chrastinová and Mária Poláčiková

Animal Production Research Centre, Nitra, Slovak Republic

Introduction

Today are used all cereal species for production of feed mixtures. Not only the species but also the structure of varieties and quality must be taken into consideration when preparing the feed mixtures. Quality of feeds and their changes in digestive tract influence the production of animal products, economy of production and environment as well. The quality of feed mixtures for farm animals depends on energy content and quality of protein components. Cereals are an important source of energy and proteins.

In our country and in the world are mainly wheat and barley the plants mostly used for feeding. Less attractive cereal is rye, which is seldom used in feed-processing industry, although it is a cereal of good quality. It is possible to achieve high efficiency with it. It is also cost effective.

Presence of higher content of anti-nutritive substances and potential occurrence of ergot (*Claviceps purpurea*) are the cause of negative attitude to the use of rye. We rank the relatively high content of non-starch polysaccharides (mainly pentosans and β -glucans) among the anti-nutritive substances. Monogastric animals are not able to split these components of cell walls by their digestive enzymes and therefore they can block digestion and resorption of nutrients with subsequent decrease of efficiency in animals.

Additional supplementation of appropriate enzymes, which split non-starch polysaccharides, into feed mixtures improves total utilization of nutrients from feed, decreasing their excretion into environment.

A number of authors mention utilization of rye in monogastric animals and poultry (Thacker et al., 1999, Rakowska et al., 1993) but it is little investigated in the nutrition of ruminants. Because of different opinions of rye utilization in animal nutrition it is necessary to inquire into this problem more deeply. Therefore also this work shall contribute to better knowledge of qualitative parameters in rye and possibilities of their improvement for utilization in nutrition of ruminants.

The objective of our work was to determine certain nutritional parameters of selected rye varieties for their utilization in nutrition of cattle, i.e. content of nutrients and nutritive value, effective ruminal degradability of crude protein and organic matter, and intestinal digestibility of by-pass crude protein.

Materials and methods

Subject of testing were three varieties of rye grown in different localities in Slovakia (variety Fernando from the localities Dobra Niva, Cerovo and Ruzomberok; Picasso from the locality Ocova and Ruzomberok; Esprit grown in locality Cerovo). The content of basic nutrients and proteins in individual rye varieties and in the residues after every feed incubation in the rumen were determined according to the Decree of the MA SK 1497/4/1997 – 100 Bulletin of the MA SK. Content of amino acids after acid hydrolysis with 6 mol.dm⁻³ HCl, and of methionine with cystin after oxidation hydrolysis was determined in automatic amino acids analyser AAA 400 (firm Ingos Prague). The extraction ICC method in

modification by Michalik et al. (1989) was used for determination proteinous fractions in rye varieties. Metabolizable energy was calculated after regression equations (Vencel et al., 1991).

Effective CP degradability and degradation parameters (a,b,c) were determined by the *in situ* method on three rumen fistulated cows. The animals were fed twice a day with a diet consisting of 70 % forage and 30 % concentrate on dry matter basis. About 4.5 g of feed samples were weighed in the bags (80 x 150 mm) made from polyamide cloth Uhelon 120T with a pore size 47 μm (with a minimum of three bags per animal, incubation and feed) and incubated for 3, 6, 9, 16, 24, 48 h in the rumen. The washing losses were also determined for 0 hours incubation. The parameters of CP degradation and effective degradability were calculated using the Neway programme based on the equations described by Ørskov and McDonald (1979). In the calculation of effective CP degradability an outflow rate of $0.06 \cdot \text{h}^{-1}$ was used. Three cows with permanent T-canulae in the duodenum behind the pancreas were used for *mobile bag* method. The undegraded freeze dried residues after 16 h ruminal incubation were weighed into small bags of 2.5 x 4.0 cm (made from Uhelon 130T with the pore size 42 μm), incubated in pepsin – HCl solution (30 min at 39° C), and inserted into the duodenum, according to the method described by Straalen and Huisman (1991).

The results of observations among individual varieties and localities were assessed by two-way variance analysis (ANOVA) and the significance of differences in medium values was tested by Duncan's test (MANOVA).

There were used basic mathematic - statistical parameters for evaluation. The differences in averages among varieties we tested by Two - Sample T - test using the programme Statistix for Windows, version 8 (Analytical Software, Tallahassee, USA).

Results and discussion

Average chemical composition of the studied varieties is in Tab. 1. The data show differences in content of nutrients. Significant differences ($P < 0.05$) were found among individual rye varieties as well as among localities.

Grausgruber et al. (2004) compared chemical composition of different cereal species and found considerable differences in content of nutrients among the studied cereals. High content of proteins was in wheat and barley, whereas the lowest content of proteins was in rye (10.84 %). The highest level of crude protein ($131.0 \pm 0.87 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ d.m.}$) was in the variety Fernando from the locality Dobrá Niva, that is a significant difference compared with the other varieties. Their variability is the result of environmental influences (Aman et al., 1995). The grain of rye is marked by increased content of protoplasmic proteins of albumins and globulins; they represented up to 40 % proportion out of the total amount of proteins in the tested varieties (Tab. 2). High content of albumins and globulins, that are richer in essential amino acids in general, suggests that the biological value of rye proteins is better than in wheat (Lásztity, 1984). Prolamin proteins in rye, called secalins, together with the glutelin ones are typical deposit proteins (Eliasson and Larsson, 1993).

Lower content of protein fractions in variety Picasso – Ružomberok (21.39 and 17.25%) manifested also lower content of amino acids – glutamin and prolin (Tab. 3). On the contrary, the highest content of prolamins (26.97%) and glutelins (18.78%), and lower content of albumins and globulins was determined in the variety Fernando from the locality Dobrá Niva.

Table 1: Content of nutrients in g.kg⁻¹ DM in tested rye varieties

Nutrients	Fernando		Picasso		Esprit		Significance of differences
	Dobrá Niva (1)	Cerovo (2)	Ružom-berok (3)	Očová (4)	Ružom-berok (5)	Cerovo (6)	
Crude protein	131.0	116.6	118.7	103.5	111.9	101.6	1:2,3,4,5,6 ⁺⁺⁺ ; 2:3 ⁺⁺ ,4 ⁺⁺⁺ ; 3:4,5,6 ⁺⁺⁺ ;4:5,6 ⁺⁺⁺ ;5:6 ⁺⁺⁺
Protein	83.3	91.4	83.3	79.9	86.7	88.7	1:2 ⁺ ,6 ⁺⁺ ;2:3 ⁺ ,4 ⁺⁺ ;3:6 ⁺⁺ ;4:5 ⁺ ,6 ⁺⁺⁺
Fibre	27.9	22.4	24.1	27.6	24.6	27.0	1:2,3,5 ⁺⁺⁺ ;2:3,5 ⁺⁺ ,4,6 ⁺⁺⁺ ;3:4,5,6 ⁺⁺ ;4:5 ⁺⁺⁺ ;5:6 ⁺⁺⁺
Fat	17.5	19.4	20.6	16.3	16.3	15.4	1:4,5 ⁺ ,2,6 ⁺⁺ ,3 ⁺⁺⁺ ; 2:3 ⁺ ,4,5,6 ⁺⁺⁺ ; 3:4,5,6 ⁺⁺⁺
Starch	558.2	613.4	586.0	593.3	596.4	610.2	1:2,3,4,5,6 ⁺⁺⁺ ;2:3,4,5 ⁺⁺⁺ ;3:4 ⁺⁺ ,5,6 ⁺⁺⁺ ;4:5 ⁺⁺⁺ ,6 ⁺⁺⁺ ;5:6 ⁺⁺⁺
Total sugars	74.3	72.3	80.7	65.9	80.5	65.6	1:2 ⁺ ,3,4,5,6 ⁺⁺⁺ ;2:3,4,5,6 ⁺⁺⁺ ;3:4,6 ⁺⁺ ;4:5 ⁺⁺⁺ ,6 ⁺⁺ ;5:6 ⁺⁺⁺
Organic matter	978.9	982.5	981.8	980.7	982.5	979.5	1:2 ⁺⁺⁺ ,3,4 ⁺⁺ ,5 ⁺⁺⁺ ,6 ⁺⁺ ;2:4 ⁺⁺ ,6 ⁺⁺⁺ ;3:6 ⁺⁺ ;4:5 ⁺⁺ ,6 ⁺⁺ ;5:6 ⁺⁺⁺
ME	13.5	13.6	13.6	13.6	13.6	13.5	-

⁺ P<0,05 ; ⁺⁺ P<0,01 and ⁺⁺⁺ P<0,001

Table 2: Proportion of protein fractions out of total content of proteins (%)

Protein fractions	FERNANDO			PICASSO		ESPRIT
	Dobrá Niva	Cerovo	Ružom-berok	Očová	Ružom-berok	Cerovo
Albumins + globulins	36.52	40.20	39.98	40.02	40.96	39.99
Prolamins	26.97	23.93	22.17	22.87	21.39	24.02
Glutelins	18.78	16.96	17.34	18.63	17.25	17.60
N-residual	17.36	18.28	19.56	18.48	19.73	17.96

As mentioned Kasarda et al. (1976) the wheat proteins are characterized mainly by high level of prolamins, very low content of lysine (2.10 g/100 g proteins), and high content of glutamine (40.53 g/100 g of proteins). Content of lysine is in rye proteins on average by 40% higher than in wheat, and by 20% higher than in triticale. Content of lysine is a determinant factor for quality of cereal proteins (Čerešňáková et al., 1990). Its content varied from 0.29 (Picasso – Očová) to 0.344 g.kg⁻¹ d.m. (Fernando – Dobrá Niva). Differences in content of lysine among the studied varieties were not significant (Tab. 3).

High content of easy soluble saccharides (starch and sugar), which determine the energy value of rye, affected the content of metabolizable energy. Its concentration is on average 13.6 MJ.kg⁻¹ DM.

Present systems of quality evaluation in feeds for ruminants necessitate besides content of nutrients also data about their degradation in rumen. Many results document differences in degradation among individual species, varieties and hybrids of concentrate feeds (Umucalilar et al., 2002, Čerešňáková et al., 2003).

Calculated parameters of degradation and effective degradability of organic matter and crude protein from values of disappearance in individual incubations are in the Table 4.

Significant differences were found among the rye varieties (P<0.01) in degradation rate of fraction "b" in crude protein, which was high in all tested samples of rye; equally high was also the rate constant

(c) of organic matter degradation. Also Zebrowska et al. (1997) determined the highest rate of nutrients degradation for rye. High values of insoluble and degradable fraction "b" were determined in all studied varieties, however, the potentially degradable fraction "a + b" was lower than 100. It means that a part of crude protein from rye is not degraded in rumen and passes to the small intestine. The differences in crude protein effective degradability were not statistically significant among the varieties. Crude protein from rye is degraded in rumen on average to 80 %.

Table 3: Content of amino acids in rye varieties (g.kg⁻¹ DM)

Amino acids	FERNANDO			PICASSO		ESPRIT
	Dobrá Niva	Cerovo	Ružomberok	Očová	Ružomberok	Cerovo
Asparagine	0.674	0.613	0.616	0.553	0.597	0.636
Threonine	0.324	0.295	0.308	0.265	0.298	0.302
Serine	0.441	0.388	0.407	0.352	0.398	0.408
Glutamine	2.064	1.788	1.737	1.470	1.691	1.816
Proline	0.896	0.787	0.747	0.631	0.758	0.835
Glycine	0.429	0.377	0.409	0.354	0.396	0.388
Alanine	0.405	0.366	0.392	0.339	0.381	0.376
Valine	0.411	0.364	0.389	0.326	0.375	0.362
Isoleucine	0.276	0.251	0.257	0.216	0.248	0.243
Leucine	0.580	0.516	0.536	0.459	0.521	0.521
Tyrosine	0.230	0.206	0.254	0.183	0.242	0.204
Phenylalanine	0.384	0.338	0.350	0.289	0.336	0.336
Histidine	0.246	0.220	0.238	0.203	0.225	0.214
Lysine	0.344	0.315	0.342	0.291	0.327	0.306
Arginine	0.534	0.467	0.514	0.435	0.491	0.447
Methionine	0.184	0.158	0.142	0.130	0.146	0.154
Cystine	0.221	0.199	0.188	0.169	0.184	0.197

Table 4: Characteristics of *in sacco* degradability of organic matter in rye and crude protein

Characteristics	FERNANDO			PICASSO		ESPRIT	Significance of differences
	Dobrá Niva (1)	Cerovo (2)	Ružomberok (3)	Očová (4)	Ružomberok (5)	Cerovo (6)	
OM							
a (%)	33.5	36.0	33.1	34.1	39.5	37.2	
b (%)	57.3	57.5	58.3	59.1	52.6	56.1	
a + b (%)	90.8	93.6	91.4	93.2	92.1	93.2	1:2 ⁺⁺ , 4,6 ⁺ ; 3:2,4 ⁺
c (%.h ⁻¹)	0.345	0.393	0.446	0.309	0.414	0.281	
EDg (%)	74.5	80.4	85.7	76.9	80.7	78.9	1:3 ⁺
Crude protein							
a (%)	30.9	30.5	29.5	29.3	25.0	24.9	1:5,6 ⁺
b (%)	61.8	63.2	63.4	64.5	67.9	69.2	1: 5 ⁺ ,6 ⁺⁺ ; 3:2,6 ⁺
a + b (%)	92.7	93.6	92.9	93.8	92.7	94.3	
c (%.h ⁻¹)	0.239	0.323	0.277	0.231	0.247	0.235	2:1,4,5,6 ⁺⁺ ,3 ⁺ ; 3:1,4,6 ⁺⁺ ,5 ⁺
EDg (%)	79.4	79.9	80.2	78.5	79.6	80.0	

⁺ P<0,05, ⁺⁺ P<0,01

a – Rapidly soluble fraction, b – Potentially degradable fraction, a + b - potentially degradable fraction, c – Rate of degradation, EDg – Effective degradability

After 16 hours of rye incubation in rumen was degraded 90 % of crude protein from the original content. The remaining 10 % passes into duodenum (*by-pass* crude protein). Intestinal digestibility of crude protein in studied varieties is in Table 5. The presented results of intestinal digestibility of crude protein were significantly different among individual rye varieties.

Table 5: Intestinal digestibility of crude protein (%) in tested varieties of rye

	Fernando (1)	Picasso (2)	Evoló (3)	Visello (4)	Significance of differences
n	16	16	15	17	
average (\bar{x}) %	67.91	65.07	67.03	66.60	1:2 ⁺⁺⁺ , 3:2 ⁺⁺ , 4:2 ⁺⁺
standard deviation (s)	2.16	1.53	1.59	1.42	
standard mean error ($s\bar{x}$)	0.54	0.38	0.41	0.34	

⁺⁺ P<0,01, ⁺⁺⁺ P<0,001

Feeds with higher content of fibre have lower intestinal digestibility of crude protein (Chrenková at al., 2000); our results document that the intestinal digestibility of crude protein in the tested varieties of rye being 66.6 %.

Conclusion

Rye represents a cereal with higher content of good quality proteins, high energy and nutritive value. Rye is a source of disposable energy in the rumen of ruminants with respect to high degradability of organic matter.

Acknowledgment

This publication/article was written during realization of the project "BELNUZ č. 26220120052" supported by the Operational Programme Research and Development funded from the European Regional Development Fund.

References

- Aman, P., Nilsson, M., Andersson, R. 1995. Chemical composition of rye grain. In International rye symposium Technology and products: VTT Symposium 161, Proc. of sym., Helsinki, Poutanen K. and Autio, K. (eds.), Finland, s. 33-38
- Čerešňáková, Z., Pajtáš, M., Král'ová, V., Halvoň, P. 1990. Vplyv vyššieho obsahu N-látok v zrne pšenice a jej kvalitu vo vzťahu k výžive zvierat. In Poľnohospodárstvo, roč. 36, s. 534-542
- Čerešňáková, Z., Chrenková, M., Kopčeková, J. 2003. Degradácia živín v bachore hovädzieho dobytku a parametre degradovateľnosti vybraných odrôd pšenice. In J. Farm. Anim. Sci., Vedecké práce VÚŽV Nitra, 34, s. 161-167
- Eliasson, A. C., Larsson, K. 1993. Cereal in breadmaking. In New York: Marcel Dekker, Inc., s. 376
- Grausgruber, H., Scheiblaue, J., Schönlechner, R., Ruckebauer, P., Berghofer, E. 2004. Variability in chemical composition and biologically active constituents of cereals. In Genetic variation for plant breeding, Proceedings of the 17th EUCARPIA General Congress, 8 - 11 September 2004, Tulln, Austria. BOKU - University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria, s. 23 - 26. ISBN 3-900962-56-1
- Harazim, J., Pavelek, P. 1999. Determination of crude protein and amino acids degradability by method in sacco in the rumen. In Zborník z medzinárodného odborného seminára „Stanovení využiteľnosti živín u prežvýkavců“. Opava, 41-46
- Chrenková, M., Čerešňáková, Z., Sommer, A. 2000. Efektívna degradovateľnosť a predikcia črevnej stráviteľnosti v bachore nedegradovaných N-látok krmív. In Czech J. Anim. Sci., 45, s. 487-491

- Kasarda, D. D., Bernardin, J. E., Nimmo, C.C. 1976. Wheat proteins. In *Advances in Cereal Science and Technology*. Vol. I, Pomeranz Y. Ed. AACC St. Paul, Minn. s. 158
- Lásztity, R. 1984. The chemistry of cereal proteins. In CRC Press, USA
- Michalík, I., Durková, E., Gálová, Z. 1989. In *Návody na cvičenia z biochémie rastlín*. Bratislava: Príroda, s.156
- MPSR. 1997. Výnos ministerstva pôdohospodárstva SR 1497/ 4/1997-100 o úradnom odbere vzoriek a laboratórnom skúšaní krmív. *Vestník MP SR*, 1997, roč. XXIX
- Ørskov, E. R., McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. In *J. Agric. Sci.*, 92, s. 499-503
- Rakowska, M., Rek-Cieply, B., Sot, A., Lipinska, E., Kubinski, T., Barcz, I., Afanasjew, B. 1993. The effect of rye, probiotics and nisine on faecal flora and histology of the small intestine of chicks. In *J. Anim. Feed Sci.*, 2, s. 73-81
- Thacker, P. A., Campbell, G. L., Scoles, G. J. 1999. Performance of young growing pigs (17-34 kg) fed rye-based diets selected for reduced viscosity. In *J. Anim. Feed Sci.*, 8, s. 549-556
- Umucalilar, H. D., Coskun, B., Gülsen, N. 2002. In situ degradation and in vitro gas production of some selected grains from Turkey. In *J. Anim. Physiol. Ann. Nutr.*, 86, 9-10, s. 288
- Van Straalen, W. M., Dooper, F. M. H., Antoniewicz, A. M., Kosmala, I., Van Vuuren, A. M. 1993. Intestinal digestibility in dairy cows of protein from grass and clover measured with mobile nylon bags and other methods. In *J. Dairy Sci.*, 76, s. 2970-2981
- Vencl, B., Frydrych, Z., Krása, A., Pospíšil, R., Pozdíšek, J., Sommer, A., Šimek, M., Zeman, L. 1991. Nové systémy hodnocení krmív pro skot. In *Sborník AZV ČSFR*, č.148, s.134
- Zebrowska, T., Dlugolecka, Z., Pajak, J. J., Korczyński, W. 1997. Rumen degradability of concentrate protein, amino acids and starch, and their digestibility in the small intestine of cows. In *J. Anim. Feed Sci.*, 6, s. 451- 470

Corresponding author

Ing. Zuzana Formelová, PhD.
Animal Production Research Centre Nitra
Institute for Nutrition
Hlohovecká 2, 951 41, Lužianky, Slovakia
E-mail: formelova@cvzv.sk

Maissilage ermöglicht bessere Stickstoffeffizienz der Bio-Kuhmilchproduktion als siliertes italienisches Raygras

Lisa Baldinger, Werner Zollitsch und Wilhelm Knaus

Institut für Nutztierwissenschaften, Department für Nachhaltige Agrarsysteme, Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Im Bemühen um eine Ressourcen sparende Lebensmittelproduktion stellt die Effizienz der Nährstoffnutzung im tierischen Organismus eine wichtige Stellschraube dar. Ein diesbezüglicher Parameter in der Milcherzeugung ist die Stickstoffeffizienz, welche den Anteil des als Milcheiweiß abgegebenen Stickstoffs in % des über das Futter aufgenommenen Stickstoffs ausdrückt und sich üblicherweise in einem Bereich zwischen 8 und 42 % bewegt (Castillo 2000). Abgesehen vom wichtigsten Einflussfaktor, dem gesamten Stickstoffinput in das Produktionssystem, wird sie auch vom Verhältnis zwischen aufgenommener Energie und Protein beeinflusst.

In der österreichischen biologischen Landwirtschaft wird die häufig proteinreiche Gras- oder Klee-grassilage gerne mit energiereicher Maissilage kombiniert, wodurch die Versorgung mit pansenverfügbarem Protein und Energie ausgeglichener wird und eine bessere Stickstoffeffizienz erzielt werden kann. Berichte über eine im Vergleich zu Maissilage höhere Grundfutteraufnahme (Bernard et al. 2002) und eine sogar bessere Fütterungseffizienz beim Einsatz von siliertem italienischem Raygras (Cooke et al. 2008) werfen allerdings die Frage nach der damit erzielbaren Stickstoffeffizienz auf.

Material und Methoden

Der Fütterungsversuch war als change-over design mit zwei Versuchsgruppen angelegt und fand zwischen November 2010 und Februar 2011 am nach biologischen Richtlinien geführten Lehrbetrieb der HLFS Ursprung in Elixhausen (Salzburg) statt. Nach einer dreiwöchigen Angewöhnung der Kühe an das CALAN-Fressplatzsystem (zur Erhebung der Grundfutteraufnahme am Einzeltier) dauerte der Versuch 12 Wochen, wobei zu Beginn der Woche 7 die Rationen getauscht wurden. Insgesamt nahmen 22 laktierende Milchkühe der Rasse Holstein am Versuch teil, allerdings absolvierten 3 Kühe aufgrund verspäteter Abkalbung oder verfrühter Trockenstellung nicht den ganzen Versuch. Zu Versuchsbeginn wurden die Kühe auf zwei Gruppen zu je 11 Kühen aufgeteilt, nach den Kriterien Laktationszahl ($2,5 \pm 1,7$ bzw. $3,0 \pm 1,5$), Laktationstag (110 ± 65 bzw. 141 ± 109), Milchleistung ($27,4 \pm 9,5$ bzw. $23,9 \pm 5,1$ kg) und Lebendmasse (654 ± 62 bzw. 665 ± 47 kg).

Es wurden zwei aufgewertete Mischrationen verglichen, wovon eine Maissilage (Maisration, M) enthielt und die andere siliertes italienisches Raygras (Raygrasration, R; siehe Tabelle 1). Italienisches Raygras wurde 2010 auf Flächen der HLFS Ursprung angebaut, und der 2. und 3. Schnitt wurden für den Fütterungsversuch zu Ballensilage konserviert (2. bzw. 3. Schnitt: 160-118 g XP, 491-527 g NDF, 23-13 g Zucker und 6,14-5,55 MJ NEL kg^{-1} T). Aufgrund eines Ernteausfalls wurde Maissilage in Bioqualität zugekauft (75 g XP, 403 g NDF, 375 g Stärke, 9 g Zucker und 6,77 MJ NEL kg^{-1} T). Beide Mischrationen enthielten Grassilage (99 g XP, 426 g NDF, 21 g Zucker und 6,33 MJ NEL kg^{-1} T) und einen geringen Anteil Heu (85 g XP, 646 g NDF, 146 g Zucker und 5,38 MJ NEL kg^{-1} T). Bei der Grassilage handelte es sich um eine Mischung aus dem ersten Schnitt aus dem Dauergrünland und dem dritten Schnitt eines Klee-grasbestandes im dritten Hauptnutzungsjahr. Durch die Beimischung von betriebsei-

gener Gerste und zugekauftem Sojakuchen in unterschiedlichen Anteilen wurde beabsichtigt isonitrogene, aber nicht isoenergetische Mischrationen zu erzeugen, mit einem rechnerischen Rohproteingehalt von 142 g kg⁻¹ T. Die Kraftfutterergänzung erfolgte für beide Rationen mit einem Zukaufskraftfutter (166 g XP und 7,8 MK NEL kg⁻¹ T), wobei ab 15 kg täglicher Milchleistung für jedes zusätzliche kg Milch 0,5 kg Kraftfutter-T zugeteilt wurden, bis maximal 6 kg Kraftfutter-T pro Tag. Die Mischrationen wurden täglich frisch gemischt und zweimal täglich so vorgelegt dass Futterreste von 5-10 % gewährleistet waren. Das Zukaufskraftfutter wurde restriktiv zugeteilt und über eine jederzeit zu betretende transpondergesteuerte Kraftfutterstation angeboten.

Tabelle 1: Komponenten und Inhaltstoffe der aufgewerteten Mischrationen (g kg⁻¹ T, sofern nicht anders angegeben)

	Mischration	
	M	R
Komponenten		
Grassilage	380	380
Maissilage	400	.
Siliertes italienisches Raygras, 2. Schnitt	.	200
Siliertes italienisches Raygras, 3. Schnitt	.	200
Heu	100	100
Gerste	20	100
Sojakuchen	100	20
Inhaltsstoffe		
Trockenmasse (T), g kg ⁻¹ Frischmasse	370	352
Rohprotein	122	141
nutzbares Rohprotein am Duodenum (nXP)	136	133
RNB	-2	1
NDF	449	468
ADF	267	287
Stärke	183	44
Zucker	35	41
Rohasche	82	110
NEL, MJ	6,30	6,15

Die Milchleistung und die Kraftfutteraufnahme wurden täglich automatisiert dokumentiert, während die tierindividuelle Grundfutteraufnahme mithilfe des CALAN Fressplatzsystems nur während 4 sechstägiger Erhebungsperiode erhoben wurde. Zur Analyse der Inhaltsstoffe wurden je Erhebungsperiode Sammelproben (über zwei Tage) jedes eingesetzten Einzelfuttermittels, der frischen Mischrationen und der Futterreste gezogen. Für die Analyse der Milchinhaltsstoffe wurden insgesamt 17 Proben je Kuh gezogen. Einmal wöchentlich wurden die Kühe unmittelbar nach dem Melken gewogen. Parameter der Futtermittelverwertung wurden nach Methoden der GfE (2001) berechnet.

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Statistik-Pakets SAS 9.1 unter Verwendung der Prozedur MIXED. Das verwendete Modell enthielt die fixen Effekte Ration, Versuchstag, Order, Laktationszahl, Laktationstag, Milchleistung (kg ECM) und Lebendmasse, außerdem den zufälligen Effekt Kuh (Order) und die Wechselwirkungen Ration*Laktationszahl und Ration*Laktationsstadium. Nur signifikante Effekte mit einem P-Wert <0,05 verblieben im Modell. Von den getesteten Kovarianzstrukturen (KS) wurde diejenige ausgewählt deren Bayesisches Informationskriterium Null am nächsten, verwendet wurden daher first-order antedependence (ANTE[1]), heterogenous compound symmetry (CSH), spatial power law (SP[POW]) und spatial spherical (SP[SPH]). Die Tabellen 2 und 3 zeigen die Least

Squares Mittelwerte für die Ration, die Residualstandardabweichung (SE), den Wahrscheinlichkeitswert (P) und die verwendete Kovarianzstruktur (KS).

Ergebnisse und Diskussion

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich gelang es nur teilweise, durch Aufwertung mit Gerste und Soja isonitrogene Mischrationen zu erzeugen. Mit 136 (M) bzw. 133 g kg⁻¹ T (R) waren die nXP-Gehalte zwar fast ident, allerdings wies Mischration R einen höheren Rohproteingehalt auf als Mischration M. Weiters unterschieden sich die Mischrationen im Trockenmasse- und Energiegehalt, wobei beide Gehalte in der Maisration höher waren. Trockenmasse- und Energiegehalt des Futters sind wesentliche Faktoren die die Grundfutteraufnahme von Milchkühen positiv beeinflussen, daher hatte die Maisration auf fast alle Parameter der Futteraufnahme einen positiven Einfluss (siehe Tabelle 2), so waren etwa die Aufnahme der Mischration als auch die Energieaufnahme insgesamt höher. Die Unterschiede im Energie- und Trockenmassegehalt erklären auch die Diskrepanz zu Berichten von Bernard et al. (2002), die eine höhere Aufnahme von siliertem italienischem Raygras als alleinigem Grundfutter fanden als von Maissilage (45 % Kraftfutteranteil). Während die Aufnahme von Rohprotein bei Ration R signifikant höher war als bei Ration M, war der Effekt bei der Aufnahme von nXP genau umgekehrt, zurückzuführen auf die unterschiedlichen Energiegehalte der Mischrationen.

Tabelle 2: Aufnahme von Trockenmasse, Protein und Energie

	Ration		SE	P Wert	KS
	M	R			
Trockenmasse, kg					
Mischration	15,3	14,2	1,51	<0,001^a	SP(POW)
Kraftfutter	3,0	2,7	1,73	0,007	SP(POW)
Gesamt	18,4	17,0	1,58	<0,001	SP(POW)
Rohprotein, g	2380	2459	241,3	0,017	SP(POW)
nXP, g	2598	2364	231,7	<0,001	SP(POW)
Energie, MJ NEL	120	109	10,7	<0,001	SP(POW)

^aP-Wert der Wechselwirkung Ration*Laktationszahl =0.008

Sowohl die Milchleistung als auch der Proteingehalt der Milch waren bei Fütterung der Maisration signifikant höher als bei der Raygrasration, der Fettgehalt hingegen war signifikant niedriger (siehe Tabelle 3). Es zeigte sich hier der hinreichend bekannte Zusammenhang zwischen einer erhöhten Stärkezufuhr (Maisration) und der durch die Veränderungen im Pansenstoffwechsel verursachten Milchleistungssteigerung bei gleichzeitigem Absinken des Milchfettgehaltes (Walker et al. 2004). Der etwas verbesserte Proteingehalt der Milch durch Ration M wiederum ist zurückzuführen auf die erhöhte Energieaufnahme. Für den Milchnharnstoffgehalt wurden signifikante Wechselwirkungen zwischen Ration und Laktationszahl und Ration und Laktationsstadium beobachtet, allerdings hatte Ration M immer einen negativen Effekt. Im Durchschnitt wurde bei Fütterung der Maisration ein Milchnharnstoffgehalt von 78 mg l⁻¹ beobachtet, nach Fütterung der Raygrasration 137 mg l⁻¹. Werte zwischen 150 und 300 mg l⁻¹ werden als ausreichende Energie- und Proteinversorgung der Pansenmikroben interpretiert, daher deuten die Werte der Raygrasration auf eine knappe, die der Maisration auf eine wahrscheinlich schon mangelhafte Proteinversorgung der Pansenflora hin.

Wie die in Tabelle 3 dargestellten Nährstoffbilanzen zeigen waren die Kühe unabhängig von der Fütterung ausreichend mit nXP und Energie versorgt und mussten keine Lebendmasse mobilisieren. Die ruminale Stickstoffbilanz (RNB) zeigt jedoch Unterschiede in der Proteinversorgung auf: Während die

mit der Raygrasration erzielte RNB von +9 g als optimal zu bezeichnen ist, ist die negative RNB von -29 g bei Fütterung der Maisration den Empfehlungen der GfE (2001) zufolge als Proteinunterversorgung der Pansenmikroben zu interpretieren. Das deckt sich mit der Interpretation des bei Ration M beobachteten niedrigen Milchharnstoffgehaltes, siehe weiter oben. Kühe können bei einer Proteinunterversorgung zumindest einen Teil des Proteinbedarfs aus der Lebendmasse mobilisieren, bevor die Milchleistung durch die Unterversorgung zwangsläufig sinkt (Van Soest 1994). Da im vorliegenden Versuch ein gutes Milchleistungsniveau und keine Lebendmassemobilisation festgestellt werden konnte, wird daraus der Schluss gezogen dass die knappe, wahrscheinlich bereits zu knappe Proteinversorgung der Pansenmikroben bei Fütterung der Maisration noch keine Beeinträchtigung der Kuh und ihrer Leistung verursachte. Die mit 30,4 % sehr hohe Stickstoffeffizienz bei Fütterung der Maisration ist eine positive Folge der knappen Proteinversorgung, während bei Fütterung der Raygrasration 25,9 % des Stickstoffs für die Milchproduktion genutzt wurden, was als durchschnittlich einzustufen ist.

Tabelle 3: Milchleistung, Nährstoffbilanzen und Produktionseffizienz

	Ration		SE	P Wert	KS
	M	R			
Milchleistung					
Milch, kg	22,7	20,4	5,72	<0,001	SP(POW)
ECM, kg	23,3	21,3	7,03	<0,001	CSH
Fett, g kg ⁻¹	40,8	43,7	6,61	<0,001	SP(POW)
Protein, g kg ⁻¹	33,0	31,8	2,61	<0,001	CSH
Harnstoff, mg 100 ml ⁻¹	7,8	13,7	2,84	<0,001^a	SP(POW)
Nährstoffbilanzen					
RNB über Gesamtration, g	-29	9	12,5	<0,001	ANTE(1)
nXP-Bilanz, %	119	120	13,2	0,512	SP(POW)
Lebendmasseänderung, kg Tag ⁻¹	0,20	0,10	1,403	0,509	SP(POW)
NEL- Bilanz, %	109	104	10,9	<0,001	SP(POW)
Produktionseffizienz					
ECM je kg Gesamtfuttermittelaufnahme, kg	1,23	1,19	0,210	0,486	SP(SPH)
Stickstoffeffizienz, %	30,4	25,9	4,57	<0,001	SP(POW)

^aP-Werte der Wechselwirkungen Ration*Laktationszahl =0.005^c und Ration*Laktationsstadium =0.002^c

Der Einsatz von siliertem italienischem Raygras resultierte also in einer ausgeglichenen Versorgung der Pansenmikroben und einem zufriedenstellenden Milchleistungsniveau, der Einsatz von Maissilage aber bewirkte durch eine bedeutend knappere Proteinversorgung eine sehr hohe Stickstoffeffizienz.

Literatur

- Bernard, J. K., J. W. West, and D. S. Trammell. 2002. Effect of replacing corn silage with annual ryegrass silage on nutrient digestibility, intake, and milk yield for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85(9):2277-2282
- Castillo, A. R., E. Kebreab, D. E. Beever, and J. France. 2000. A review of efficiency of nitrogen utilisation in lactating dairy cows and its relationship with environmental pollution. *Journal of Animal and Feed Sciences* 9:1-32
- Cooke, K. M., J. K. Bernard, and J. W. West. 2008. Performance of Dairy Cows Fed Annual Ryegrass Silage and Corn Silage with Steam-Flaked or Ground Corn. *Journal of Dairy Science* 91(6):2417-2422
- GfE. 2001. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. DLG, Frankfurt/Main, D
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2 ed. Cornell University Press, USA

Walker, G. P., F. R. Dunshea, and P. T. Doyle. 2004. Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: a review. *Australian Journal of Agricultural Research* 55(10):1009-1028

Autorenanschrift

DI Lisa Baldinger
Department für Nachhaltige Agrarsysteme
Institut für Nutztierwissenschaften
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel Str. 33, 1180 Wien
E-Mail: lisa.baldinger@boku.ac.at

Untersuchungen zum Austausch von Körnermais durch Weizen beim Milchvieh

Thomas Ettle, Anton Obermaier und Mariana Steyer

Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Einleitung

Auf Grund des hohen Anteils an beständiger Stärke ist Körnermais ein fester Bestandteil in Kraftfuttermischungen für Wiederkäuer. Aus Literaturdaten zum Austausch von Körnermais gegen Weizen ergibt sich im Mittel eine Erhöhung der Milchleistung um etwa 1 kg/Kuh und Tag nach Einsatz von Körnermais (Daenicke, 2000), bei leicht erhöhten Milchfettgehalten. Luzernesilage weist einen hohen Rohfasergehalt und Strukturwert auf, so dass möglicherweise in Luzernesilage-basierten Rationen höhere Anteile an ruminal abbaubarer Stärke toleriert werden. Vor diesem Hintergrund soll mit vorliegender Untersuchung geklärt werden, ob der Austausch von Körnermais durch Weizen bei Rationen mit hohen Luzernesilage-Anteilen Auswirkungen auf Futteraufnahme und Milchleistungskriterien hat. Der Versuch ist Teil des „Forschungsprogrammes des Bundes und der Länder Bayern und Baden-Württemberg zur Bekämpfung des Westlichen Maiswurzelbohrers (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte)“.

Material und Methoden

34 Milchkühe (Fleckvieh) wurden unter Berücksichtigung von Laktationsstand, Leistung, Futteraufnahme und Milchhaltsstoffen (jeweils Mittelwerte aus zweiwöchiger Vorperiode) gleichmäßig auf zwei Versuchsgruppen (Winterweizen und Körnermais) aufgeteilt. Es wurden Tiere ab dem 34. Laktationstag für den Versuch herangezogen. Die Kühe befanden sich in der ersten bis neunten Laktation (im Mittel $2,5 \pm 2$ Laktationen). Die Versuchsdauer betrug 10 Wochen.

Den Tieren wurde eine Teilmischration (PMR) ad libitum angeboten, die täglich einmalig mit dem Futtermischwagen angemischt und vorgelegt wurde. Die PMR basierte auf Maissilage (29 % der TM), Luzernesilage (31 % der TM), Heu und Stroh (je 2,4 % der TM) und Kraftfutter. Im Kraftfutteranteil der PMR wurde Körnermais gegen Winterweizen 1 : 1 ausgetauscht (4,6 kg TM/Tier und Tag bei einer unterstellten Aufnahme von 19 kg TM PMR/Tier und Tag). Nach Rationsberechnung entsprachen sich die Rationen im Gehalt an Energie, nXP und Stärke weitgehend, während sich im Gehalt an beständiger Stärke deutliche Unterschiede zeigten. Aus einem an den PMR durchgeführten Verdauungsversuch ergab sich für die PMR mit Körnermais eine höhere Verdaulichkeit der organischen Substanz, so dass sich daraus für die beiden PMR eine Differenz im Energiegehalt von 0,2 MJ NEL/ kg TM ergab (Tabelle 1). Die weiteren Analysen der Inhaltsstoffe bestätigen die Rationsplanung. Die PMR war auf eine Milchleistung von 25,5 kg ausgerichtet. Für darüber hinausgehende Milchleistungen wurde Leistungskraftfutter (LKF; 29 % Gerste, 28 % Weizen, 20 % Rapsextraktionsschrot, 10 % Sojaextraktionsschrot, 10 % Körnermais, 1,5 % Ca-Carbonat, 0,9 % Zuckerrübenmelasse, 0,6 % Natriumchlorid; 7,0 MJ NEL/kg TM) nach Leistung verabreicht. Bei Färsen wurde auf Grund der geringeren zu erwartenden Futteraufnahme ab 21,5 kg LKF verabreicht.

Die Aufnahme an PMR wurde tierindividuell über automatische Wiegetröge erfasst, die Aufnahme an LKF über die Kraftfutterstation des Melkautomaten. Die Milchleistung wurde täglich erfasst, Milchpro-

ben 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 (1976) auf ihre Rohrnährstoffgehalte untersucht wurden.

Die PMR, der Körnermais und der Weizen wurden nach den Leitlinien der GfE (1991) mit jeweils 5 Hammeln im Verdauungsversuch auf die Verdaulichkeit der Rohrnährstoffe überprüft. Aus den ermittelten Verdaulichkeiten wurden in Verbindung mit den Rohrnährstoffgehalten die jeweiligen Energiegehalte nach GfE (1995) berechnet. Zur Überprüfung des Stoffwechselstatus wurden 2 Wochen nach Versuchsbeginn und in der letzten Versuchswoche von allen Tieren Blutproben aus der Vena jugularis gewonnen. Die Analyse der verschiedenen Blutparameter wurde anschließend beim Tiergesundheitsdienst Bayern e.V. (TGD) durchgeführt.

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 Rohrnährstoff- und Energiegehalte

	Versuchsgruppe	
	Körnermais	Weizen
Maissilage	29,1	29,1
Luzernesilage	31,3	31,3
Heu	2,4	2,4
Gerstenstroh	2,4	2,4
Körnermais	24,4	-
Weizen	-	24,4
Viehsalz	0,3	0,3
Rapsextraktionsschrot	3,6	3,6
Rapskuchen	6,4	6,4
Mineralfutter	0,3	0,3
Inhaltsstoffe (n=3 je Versuchsgruppe)		
TM, g/kg	393±12	391±8
nXP, g/kg TM	153±1	151±1
NEL, MJ/kg TM	7,01±0,04	6,80±0,03
NDFom, g/kg TM*	353	334
XF, g/kg TM	193±4	198±5
Strukturwert	1,7	1,7
XS + XZ, g/kg TM	284±16	293±17
bXS**, g/kg TM	83	40

* einmalige Analyse aus Verdauungsversuch

**kalkuliert; Beständigkeit der Stärke: 32 % und 15 % für die Rationen Körnermais und Weizen; (Beständigkeit der Stärke der Einzelkomponenten nach DLG 2001, 2008)

Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 2 zeigt eine Übersicht über die Futter-, Nährstoff- und Energieaufnahme sowie die Milchleistungskriterien der beiden Versuchsgruppen. Die TM-Aufnahme lag in der Gruppe Körnermais um etwa 1 kg höher als in der Gruppe Weizen. Obwohl die Unterschiede zwischen den Gruppen nicht signifikant

sind, resultieren sie bei vergleichbaren Gehalten an nXP und NEL in der Ration in numerisch erhöhten nXP- und Energieaufnahmen in der Gruppe Körnermais. Bei den Literaturdaten zum Einfluss unterschiedlicher Stärkequellen auf Futteraufnahme und Leistung bei der Milchkuh überwiegen Untersuchungen zum Vergleich Körnermais gegen Gerste. Bei einem Vergleich von Körnermais und Weizen zeigten sich in Untersuchungen von Daenicke (2000) keine Auswirkungen auf die Futteraufnahme, während Gozho und Mutsvangwa (2008) nach Verfütterung von Körnermais eine um 2 kg TM/Tier und Tag tendenziell höhere Futteraufnahme beobachteten als nach Verfütterung von Weizen. Ob Effekte verschiedener Stärkequellen auf die Futteraufnahme auftreten wird neben der Zusammensetzung der Gesamtration und damit dem gesamten Gehalt an Stärke und leicht löslichen Kohlenhydraten auch von anderen Faktoren wie zum Beispiel der Aufbereitung der Stärkequellen abhängen. Aus den Angaben in Tabelle 1 lässt sich für die Ration Weizen ein Gehalt an leicht löslichen pansenverfügbaren Kohlenhydraten von 253 g/kg TM in der PMR ableiten. Bereits hier wird der kritische Bereich von 250 g/kg TM pansenverfügbare Kohlenhydrate (DLG, 2001) erreicht, zusätzlich ergeben sich aus dem Weizen-Gerste- betonten Leistungskraftfutter weitere Quellen an leicht abbaubaren Kohlenhydraten, was das Auftreten acidotischer Verhältnisse begünstigt. Andererseits wird auch deutlich, dass der Rohfasergehalt bzw. die Strukturwirkung der Luzernesilage hier in der Rationsgestaltung günstig wirkt (Tabelle 1), was unter Umständen eine signifikante Verminderung der Futteraufnahme in der Gruppe Weizen verhindert hat.

Tabelle 2: Futter-, Nährstoff- und Energieaufnahme und Milchleistungskriterien (Mittelwert \pm Standardabweichung)

	Versuchsgruppe	
	Körnermais	Weizen
TM-Aufnahme, kg/Tag	22,2 \pm 2,6	21,1 \pm 2,2
XP-Aufnahme, g/Tag	3565 \pm 496	3431 \pm 418
nXP-Aufnahme, g/Tag	3458 \pm 443	3249 \pm 367
NEL-Aufnahme, MJ/Tag	157 \pm 19	146 \pm 16
RNB, g/Tag	17 \pm 9	29 \pm 9
Milchleistung, kg/Tag	28,4 \pm 9,8	26,9 \pm 7,4
Fett, %	4,09 \pm 0,47	4,06 \pm 0,40
Eiweiß, %	3,60 \pm 0,23	3,71 \pm 0,23
Harnstoff, mg/l	249 \pm 25 ^b	298 \pm 38 ^a
ECM, kg /Tag	28,8 \pm 9,0	27,4 \pm 6,9

Die Milchleistung lag in den Gruppen Körnermais und Weizen bei 28,4 und 26,9 kg/Tier und Tag (Tabelle 2). Nach einer Literaturübersicht von Daenicke (2000) ergibt sich im Mittel mehrerer Versuche zum Austausch von Getreide (Gerste und Weizen) gegen Körnermais ein Vorteil von 1,1 kg Milch pro Tier und Tag zu Gunsten der jeweiligen Körnermaisgruppe. Die vorliegenden Ergebnisse lassen sich hier gut einordnen. In den DLG-Futterwerttabellen für Wiederkäuer (DLG, 1997) ist für Körnermais mit 8,39 MJ NEL/kg TM eine etwas niedrigere Energiekonzentration ausgewiesen als für Winterweizen mit 8,51 MJ NEL/kg TM. Aus Respirationsversuchen ergeben sich gegenläufig für Körnermais höhere Energiegehalte als für Weizen (Gädeken et al., 1995; Daenicke, 2000), was in Übereinstimmung mit den Verdaulichkeitsversuchen an den PMR in vorliegender Untersuchung steht. Verdaulichkeitsmessungen an dem im Versuch eingesetzten Körnermais und Weizen ergaben bei insgesamt hoher Streuung zwischen den Hammeln Energiekonzentrationen von 8,93 und 8,73 MJ NEL/kg TM. Obwohl damit die Unterschiede in den Energiekonzentrationen der PMR nicht vollständig erklärt werden können, ergeben sich doch Hinweise auf einen erhöhten Energiegehalt des Körnermais im Vergleich zum Weizen. Eine weitere Überprüfung des energetischen Futterwertes von Weizen und Körnermais scheint

angebracht. In Übereinstimmung zu anderen Arbeiten (Daenicke, 2000) ergaben sich in vorliegender Untersuchung keine deutlichen Unterschiede bei den Milchfett- und Milcheiweißgehalten. Bei Milchfettgehalten von knapp 4,1 % in beiden Gruppen ergaben sich dabei keine Hinweise auf das Erreichen einer acidotischen Stoffwechselsituation. Der Milchwahnstoffgehalt lag in der Gruppe Weizen deutlich höher als in der Gruppe Körnermais, was als Folge der Unterschiede in der RNB gesehen werden kann. Die Serum-Harnstoffgehalte (Tabelle 3), die nach Burgos et al. (2007) eng mit den Milchwahnstoffgehalten korrelieren, wurden vorliegend durch die Behandlung nicht signifikant beeinflusst, zeigen aber eine gleichgerichtete Tendenz wie die Milchwahnstoffgehalte. Das Niveau der Milch- und Serum-Harnstoffgehalte bewegt sich allerdings bei beiden Gruppen im Normbereich. Als Indikator für die Lebergesundheit wurde die GLDH-Aktivität im Serum herangezogen. Im Versuchsverlauf zeigten sich bei beiden Gruppen keine relevanten Veränderungen in der Serum-GLDH-Aktivität. Darüber hinaus lag die GLDH-Aktivität in beiden Gruppen im Vergleich zu den Referenzwerten in einem unkritischen Bereich, lediglich zum 2. Entnahmezeitpunkt lagen die Werte jeweils eines Tieres in beiden Versuchsgruppen deutlich über den Referenzwerten. In gleicher Weise ergeben sich auch aus den Gehalten an Gesamtprotein im Serum keine Hinweise auf Leberschädigungen. Die Serum-Glucose-Gehalte lagen in beiden Gruppen auf vergleichbarem Niveau und erhöhten sich in beiden Gruppen im Versuchsverlauf minimal. Obwohl der Glucose-Spiegel innerhalb eines relativ engen Bereiches reguliert werden muss, reagieren die Blut-Glucose-Gehalte nach Kronschnabl (2010) insbesondere bei multipaaren Kühen auf die energetische Versorgungssituation. In vorliegender Untersuchung lassen sich aus den Serum-Glucose-Gehalten keine Rückschlüsse auf variierende Versorgung mit Energie oder leicht löslichen Kohlenhydraten ziehen.

Tabelle 3: Stoffwechselfparameter im Blutserum (Mittelwert \pm Standardabweichung)

	Versuchsgruppe	
	Körnermais	Weizen
GLDH, U/l		
1. Entnahmezeitpunkt	18,0 \pm 5,8	16,0 \pm 7,9
2. Entnahmezeitpunkt	20,0 \pm 10,1	18,4 \pm 9,8
Referenzbereich*	bis 30 U/L	
Harnstoff, mg/dl		
1. Entnahmezeitpunkt	25,1 \pm 4,4	27,7 \pm 6,8
2. Entnahmezeitpunkt	33,6 \pm 5,7	35,2 \pm 5,7
Referenzbereich*	20 - 30 mg/dl	
Gesamtprotein, g/dl		
1. Entnahmezeitpunkt	7,6 \pm 0,7	7,8 \pm 0,9
2. Entnahmezeitpunkt	7,3 \pm 0,5	7,6 \pm 0,7
Referenzbereich*	6,0 - 8,0 g/dl	
Glucose, mg/dl		
1. Entnahmezeitpunkt	68,5 \pm 4,1	70,1 \pm 4,9
2. Entnahmezeitpunkt	70,3 \pm 7,0	71,8 \pm 4,4
Referenzbereich*	44 - 60 mg/dl	

* Referenzbereiche, TGD Grub

Zusammenfassung

In vorliegender Untersuchung wurde überprüft, ob sich nach Ersatz von Körnermais durch Weizen in Luzernesilage-betonten Milchkuhrationen Effekte auf Futteraufnahme, Milchleistungskriterien und Stoffwechselfparameter darstellen lassen. Nach Verfütterung von Weizen lag die Futteraufnahme um etwa 1 kg unter der mit Körnermais gefütterten Gruppe, wodurch sich die tägliche Energieaufnahme um etwa 11 MJ NEL/Tag verringerte. Die Milchleistung war in der Gruppe Weizen um ca. 1,5 kg erniedrigt. Auch wenn die genannten Effekte nicht abzusichern sind, ist die Größenordnung gut in die aus der Literatur verfügbaren Daten einzuordnen. Aus Sicht der Tierernährung sprechen die Ergebnisse vorliegender Untersuchung jedoch nicht dafür, dass bei Luzernesilage-basierten Rationen auf Körnermais als Lieferant von Stärke mit niedriger Abbaubarkeit verzichtet werden sollte. Die Kombination von Maissilage und Weizen führt zu hohen Gehalten an leicht löslichen Kohlenhydraten in der Ration. Dementsprechend steigt das Risiko, dass die Grenzwerte für die Gehalte an Stärke und Zucker von 250 g/kg TM (DLG, 2001) überschritten werden und dementsprechend acidotische Bedingungen begünstigt werden. Weitere Untersuchungen im höheren Leistungsbereich sind zur Beantwortung offener Fragen angebracht.

Literatur

- Burgos, F.A., Fadel, J.G., De Peters, E.J. (2007): Prediction of Ammonia Emission from Dairy Cattle Manure Based on Milk Urea Nitrogen: Relation of Milk Urea Nitrogen to Urine Urea Nitrogen Excretion. *J. Dairy Sci.* 90, 5499-5508
- Daenicke, R. (2000): Fütterungsversuche zum Einsatz verschiedener Stärkequellen bei Milchkühen. *Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft*217, 60-70
- DLG (1997): DLG Futterwerttabellen Wiederkäuer, DLG-Verlag Frankfurt/Main
- DLG (2001): Struktur- und Kohlenhydratversorgung der Milchkuh. *DLG-Information* 2/2001, DLG, Frankfurt a. Main
- DLG (2001): Stärkebeständigkeit für silierte Maisprodukte. Ergänzung zur Broschüre „Struktur- und Kohlenhydratversorgung der Milchkuh. *DLG-Information* 2/2001“
- Gädeken, D., Lebzien, P., Daenicke, R. (1995): Zum Einfluß von Mais- und Weizenstärke auf die energetische Verwertung bei Milchkühen. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 4, 96
- 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
- Gozho, G.N., Mutsvangwa, T. (2008): Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance, and microbial protein synthesis in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 91, 2726-2735
- Kronsnabl, C. (2010): Ermittlung von Laktationsspezifischen Prognosebereichen zur Beurteilung der Konzentration von Blutparametern beprobter Milchkuhe. Dissertation, LMU München
- Naumann, C., Bassler, R. (1976): *Methodenbuch III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln.* 6. Ergänzungslieferung (2006), VDLUFA-Verlag Darmstadt

Autorenanschrift

Thomas Ettle
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub
Prof.-Dürrwaechter-Platz 3, 85586 Poing
Email: Thomas.Ettle@LfL.bayern.de

Einfluss von Rapskuchen auf Jodgehalt in Milch und Blut von Kühen

Christian Koch¹, Friedrich Schöne², Franz-Josef Romberg³, Matthias Leiterer², Herbert Steingäß⁴ und Karl-Heinz Südekum⁵

¹ Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung, Hofgut Neumühle, Münchweiler an der Alsenz

² Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Jena

³ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Westpfalz, Münchweiler an der Alsenz

⁴ Universität Hohenheim, Institut für Tierernährung, Stuttgart

⁵ Universität Bonn, Institut für Tierwissenschaften, Bonn

Einleitung

Rapskuchen ist ein energiereiches Eiweißfuttermittel für Wiederkäuer. Somit kann Rapskuchen das Sojaextraktionsschrot, welches als beliebtes und importiertes Proteinfuttermittel in Rationen von Milchkühen eingesetzt wird, ohne negative Effekte auf Futteraufnahme und Milchleistung zum großen Teil oder auch vollständig ersetzen (KUDRNA und MARUONEK, 2006; KOCH, 2010). Die in Raps und daraus hergestellten Futtermittel (Rapsextraktionsschrot und Rapskuchen) in unterschiedlichen Anteilen enthaltenen Glucosinolate (GSL) können den Jod und Schilddrüsenstatus (Thyronin, T₃ und Thyroxin T₄) von Milchkühen beeinflussen (SCHÖNE und RAJENDRAM, 2009). So wurde bei Verfütterung von Rapsextraktionsschrot an Milchkühe die Jodausscheidung über die Milch signifikant reduziert, was auf die Glucosinolate (GSL) zurückzuführen ist (FRANKE et al., 2009). Rapskuchen weisen höhere GSL-Gehalte im Vergleich zum Rapsextraktionsschrot auf, was aufgrund eines fehlenden thermischen bzw. hydrolytischen GSL-Abbaus durch den Produktionsprozess des Rapskuchens (i. d. R. Kaltpressung) zu erklären ist (SCHUMANN, 2005). Aufgrund der beschriebenen Effekte von glucosinolathaltigen Futtermitteln auf den Schilddrüsenstoffwechsel, empfiehlt die Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE, 2001) für Milchkühe eine Verdopplung der Versorgung mit Jod von 0,5 mg/kg TM auf 1 mg/kg TM. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde der Einfluss von Rapskuchen auf den Jodstatus von Milchkühen untersucht.

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. Für den Fütterungsversuch standen alle laktierenden Tiere der Herde zur Verfügung, d. h. in der Regel waren je nach Anteil an trockenstehenden Tieren 60 bis 65 laktierende Tiere im Versuch. Die Tiere wurden etwa 14 Tage nach der Abkalbung, sofern sie keine klinischen Auffälligkeiten (erhöhte Temperatur, Ketose, usw.) zeigten, in die Versuchsherde integriert. Bei Einstellung 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. In den fünf Versuchswochen danach erfolgte die Datenerhebung. Aus den im Fütterungsversuch stehenden Tieren wurden zu Versuchsbeginn 21 Tiere (Abkalbung kurz vor Versuchsbeginn, Juli 2007) ausgewählt, die den gesamten Versuchszeitraum durchlaufen sollten. Von diesen Tieren wurden in den ersten vier Versuchsabschnitten Proben zur Analyse der Jodstatus 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 Milchmengenmessgeräten ("Tru-Tester"). In der letzten Woche eines jeden Versuchsabschnittes (Tag 45) wurden 4-5 Stunden nach der Morgenfütterung Blutproben von 21 Kühen aus der *vena caudalis mediana* gezogen, abzentrifugiert und die Seren bis zur Analyse bei -18 °C tiefgefroren. Am gleichen Tag wurden von den 21 Kühen Milchproben (aliquote Probe aus dem Morgen- und Abendgemelk) zur Untersuchung des Jodstatus gezogen und ebenfalls bei -18 °C tiefgefroren. Gefüttert wurden die Tiere zweimal täglich in 28 Fress-Wiegetrögen – morgens (05.30 Uhr) etwa 40 % und nachmittags (15.30 Uhr) circa 60 % der Tagesmenge der Gesamtmischung (TMR). Die Wiegetröge wurden täglich vor der Morgen- sowie vor der Nachmittagsfütterung gereinigt, wobei die Futterreste entfernt und quantifiziert wurden. Für die 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 10m³ Mischvolumen gefüllt. Der selbstfahrende Horizontalmischwagen Typ R.M.H. 350-CS (Lachish Industries, Israel) war mit vier horizontalen Mischschnecken ausgestattet. Wöchentlich wurden Proben von den eingesetzten Grob- und Konzentratfuttermitteln gezogen und bis zur Analyse bei -18 °C tiefgefroren. In diesen Futtermitteln sowie in je zwei Proben des Futterkalkes und des Mineralfutters wurde der Jodgehalt bestimmt.

Im Versuch eingesetzte Futtermittel sowie die Rationszusammensetzung sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: 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	3,3	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.

Jodgehalt in Milch, Blutserum sowie Schilddrüsenhormone T₃ und T₄ im Blutserum

Die Futter-, Serum- und Milchproben wurden im gefrorenen Zustand zur Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL) nach Jena transportiert. Von den fein gemahlene im Falle der Silagen vorher gefriergetrocknete Futterproben wurden 500 mg in verschließbare 250 ml Plastikflaschen eingewogen und mit 100 ml einer 0,5%igen Ammoniaklösung (hergestellt aus Ammoniak-Hydroxyd, 25 % NH₃, Merck, Darmstadt und destilliertem deionisiertem Wasser) versetzt. Die verschlossenen Flaschen wurden über Nacht bei Raumtemperatur gelagert. Danach wurden die Proben geschüttelt und die festen Bestandteile abfiltriert (VDLUFA, 2003). Neben dem Jodgehalt wurde der Gehalt an TM, XP, XL, XF und XA in den Futtermitteln bestimmt (BASSLER und BUCHHOLZ, 2006). Der NEL-Gehalt wurde mit Hilfe der Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe aus der DLG-Futterwerttabelle Wiederkäuer (UNIVERSITÄT HOHENHEIM-DOKUMENTATIONSSTELLE, 1997) und der empfohlenen Formel der GfE (2001) berechnet. Die Milchproben wurden gefriergetrocknet und gemahlen. Von dem Lyophilisat wurden 500 mg in einem 50 ml Röhrchen aus Polypropylen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) mit 1 ml Tetra-Methyl-Ammoniak-Hydroxyd (TMAH) (TAMA Chemicals, Kawasaki Laboratory, Osaka, Japan) und 5 ml destilliertem deionisiertem Wasser versetzt, gasdicht verschlossen und im Trockenschrank über 3 Stunden auf 90°C erhitzt. Nachdem die Proben wieder auf Raumtemperatur abgekühlt waren, wurden 19 ml destilliertes deionisiertes Wasser zugegeben und die wässrige Schicht für 15 Minuten bei 15 °C bei einer Beschleunigung von 4000 *g* abzentrifugiert. Das Serum kam ohne weitere Vorbehandlung zur Analyse (Details zur Serumgewinnung bei Koch 2010). Die Jodgehalte in den Futtermitteln, der Milch sowie im Blutserum wurden mittels ICP-MS-Verfahrens (inductively coupled plasma-mass spectrometry; Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma; ICP-MS; SCIEX ELAN® DRC-e, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) (FECHER et al., 1998; LEITERER et al., 2001; SCHÖNE et al. 2009) bestimmt (vgl. <http://www.icp-ms.de>). Die Bestimmung der Schilddrüsenhormone T₃ und T₄ im Blutserum erfolgte mit einem Radioimmunoassay (RIA) mit folgenden Kits: DSL TT3 RIA, DSL 3100, DSL TT4 RIA, DSL 3200 (Beckman Coulter GmbH, Sinsheim).

Ergebnisse

Der verfütterte Rapskuchen wies einen Rohfettgehalt von 196 g sowie einen Rohproteingehalt von 326 g/kg TM auf. Der analysierte Glucosinolatgehalt lag bei 25,5 mmol GSL/kg Rapskuchen. Die ermittelten Jodgehalte in den Futtermitteln sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Jodgehalte der eingesetzten Futtermittel

Futtermittel	Jodgehalt ($\mu\text{g}/\text{kg TM}$)
Maissilage	59
Grassilage	262
Heu	53
Wintergerste	<20
Sojaextraktionsschrot	<20
Körnermais	<20
Rapskuchen	99
Futterkalk	250
Mineralfutter	204 mg/kg TM

Über die Futtermittel mit dem Schwerpunkt Mineralfutter (70 g/Kuh/Tag) unter Berücksichtigung der Futterraufnahme von im Mittel 21 kg TM/Kuh/Tag (Tabelle 3) wurden täglich zwischen 15,8 und 16,2 mg Jod pro Kuh aufgenommen entsprechend einer Jodkonzentration von 0,76 mg/kg TM der Ration. Die Futterraufnahme über alle Tiere unterschied sich zwischen Periode I und II nicht signifikant in Abhängigkeit vom eingesetzten Proteinfuttermittel (Sojaextraktionsschrot vs. Rapskuchen). In Abschnitt IV war die Futterraufnahme höher als im Abschnitt III ($P < 0,05$). Die Trockenmasseaufnahmen der ausgewählten Tiere lag bei Rapskuchenfütterung immer auf höherem Niveau im Vergleich zur Kontrolle. Eine ausführliche Darstellung sowie Diskussion der in Tabelle 2 dargestellten Parameter findet sich bei KOCH (2010).

Tabelle 3: Futterraufnahme und biologische Leistungsparameter aller Kühe sowie der 21 ausgewählten Kühe

Periode	I	II	III	IV
Alle Tiere (65 Stück)	LSQ (SE)			
Futterraufnahme (kg TM/Tag)	21,0 (0,31)	20,7 (0,29)	19,8 (0,29)	21,0* (0,28)
Milch (kg/Tag)	28,6 (0,70)	29,1 (0,70)	29,1 (0,67)	31,2* (0,64)
ECM (kg/Tag)	29,2 (0,60)	28,4* (0,60)	29,3 (0,58)	30,5* (0,55)
Milchfett (%)	4,20 (0,07)	3,85* (0,06)	4,10 (0,06)	3,87* (0,06)
Milchprotein (%)	3,55 (0,03)	3,45* (0,03)	3,47 (0,03)	3,36 (0,03)
kg ECM/kg TM	1,38 (0,03)	1,34* (0,03)	1,45 (0,03)	1,44 (0,03)
21 ausgewählte Kühe	Mittelwert (\pm SD)			
Futterraufnahme (kg TM/Tag)	20,9 \pm 2,7	21,8 \pm 2,4	20,1 \pm 2,3	21,4 \pm 3,1
Milch (kg/Tag)	31,8 \pm 5,4 ^a	29,3 \pm 4,4 ^{ab}	26,6 \pm 4,5 ^b	28,1 \pm 6,7 ^{ab}
ECM (kg/Tag)	31,4 \pm 5,3 ^a	26,6 \pm 4,5 ^b	26,8 \pm 4,0 ^b	27,1 \pm 6,4 ^b
Milchfett (%)	3,88 \pm 0,52 ^a	3,32 \pm 0,67 ^b	4,04 \pm 0,64 ^a	3,65 \pm 0,57 ^{ab}
Milchprotein (%)	3,33 \pm 0,30	3,33 \pm 0,30	3,49 \pm 0,27	3,47 \pm 0,25
kg ECM/kg TM	1,52 \pm 0,18	1,25 \pm 0,12	1,33 \pm 0,16	1,26 \pm 0,20

*; a; b: signifikante Unterschiede, $p < 0,05$; LSQ: Least-Square-Mean; SE: Standardfehler; Mittelwert: arithmetischer Mittelwert; SD: Standardabweichung

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse des Jodstatus im Blutserum dargestellt und aus Tabelle 5 sind die Ergebnisse des Jodstatus der Milchproben zu entnehmen.

Tabelle 4: Serumjodgehalt und Schilddrüsenhormonstatus (Mittelwert \pm Standardabweichung)

Variablen	Sojaextraktionsschrot	Rapskuchen
Periode	I (n=20)	II (n=19)
Jodkonzentration ($\mu\text{g/l}$)	78 ^b \pm 11	129 ^a \pm 24
T ₄ (nmol/l)	78 ^a \pm 31	100 ^b \pm 42
T ₃ (nmol/l)	1,23 \pm 0,27	1,22 \pm 0,21
Jod in T ₃ + T ₄ ($\mu\text{g/l}$)	39 ^a \pm 16	51 ^b \pm 21
Hormonjod (% am Gesamtjod)	49 \pm 15	41 \pm 18
Periode	III (n=21)	IV (n=21)
Jodkonzentration ($\mu\text{g/l}$)	76 ^b \pm 15	92 ^a \pm 17
T ₄ (nmol/l)	64 \pm 12	58 \pm 15
T ₃ (nmol/l)	1,94 \pm 0,43	1,82 \pm 0,29
Jod in T ₃ + T ₄ ($\mu\text{g/l}$)	33 \pm 6	30 \pm 8
Hormonjod (% am Gesamtjod)	44 ^a \pm 15	34 ^b \pm 11

^{a,b}: signifikante Unterschiede ($p < 0,05$)

Durch die Rapskuchenfütterung wurde der Jodgehalt im Blutserum im Vergleich zur Kontrollgruppe im zweiten Abschnitt um mehr als 60 % angehoben ($P < 0,05$). In Periode IV konnte eine um etwa 20 % höhere Jodkonzentration im Blutserum im Vergleich zu Periode III ermittelt werden ($P < 0,05$), dies bei vergleichbarer täglicher Jodaufnahme aller Tiere. Ein Effekt der GSL auf das Schilddrüsenhormon T₃ konnte nicht beobachtet werden. Beim T₄ wurde signifikant mehr im Blutserum in Periode II im Vergleich zu I gemessen. Der Jodanteil, der in den Schilddrüsenhormonen T₃ und T₄ lokalisiert ist, zeigt in den Perioden I und II eine Tendenz zu Ungunsten der Rapskuchenfütterung. In Periode IV liegt der hormonegebundene Anteil des Jods bei Rapskuchenfütterung auf signifikant niedrigerem Niveau ($P < 0,05$) als in der Kontrolle mit Sojaextraktionsschrot.

Tabelle 5: Milchjodstatus (Mittelwert \pm Standardabweichung)

Variablen	Sojaextraktionsschrot	Rapskuchen
Periode	I (n=21)	II (n=21)
Milchjodkonzentration ($\mu\text{g/kg}$)	182 ^a \pm 95	62 ^b \pm 29
Jodaufnahme (mg/Kuh/Tag)	15,8 \pm 0,2	16,2 \pm 0,5
Jod in Tagesmilchmenge (mg/Kuh/Tag)	5,8 ^a \pm 3,2	1,8 ^b \pm 0,9
Anteil an der Aufnahme (%)	36,4 ^a \pm 19,7	11,3 ^b \pm 5,4
Periode	III (n=20)	IV (n=20)
Milchjodkonzentration ($\mu\text{g/kg}$)	254 ^a \pm 60	61 ^b \pm 20
Jodaufnahme (mg/Kuh/Tag)	15,8 \pm 0,2	16,2 \pm 0,3
Jod in der Tagesmilchmenge (mg/Kuh/Tag)	6,8 ^a \pm 2,2	1,7 ^b \pm 0,7
Anteil an der Aufnahme (%)	42,8 ^a \pm 11,5	10,6 ^b \pm 4,1

^{a,b}: signifikante Unterschiede ($p < 0,05$)

Der Milchjodgehalt (Tab. 5) wurde in beiden Perioden mit Rapskuchenfütterung (Perioden II und IV), deutlich reduziert ($p < 0,05$). Bei vergleichbarer Jodaufnahme im Bereich von 15,8 bis 16,2 mg pro Kuh und Tag verminderte sich die Jodausscheidung über die Milch im Mittel von 6,8 mg/Tag auf 1,7 mg/Tag durch Rapskuchenfütterung. Kalkuliert man die täglich über die Milch ausgeschiedene Jodmenge und setzt diese ins Verhältnis zur täglichen Jodaufnahme, so wird der durch die Milch ausgeschiedene Jodanteil an der Jodaufnahme um zwei Drittel bis drei Viertel reduziert.

Diskussion und Schlussfolgerung

Der in vorliegender Studie verfütterte Rapskuchen wies mit 25,5 mmol GSL/kg und 196 g Rohfett/kg TM einen erhöhten Gehalt an GSL auf. Rechnet man den Gehalt an GSL auf fettfreie Masse um, so erhält man einen GSL Gehalt von 29 mmol/kg bei 910 g TM/kg. Im vorliegenden Fütterungsversuch lag die tägliche Aufnahme an GSL, bei unterstellter TM-Aufnahme an Rapskuchen von 3,6 kg/Kuh/Tag bei 104,4 mmol. Bei Franke et al. (2009) erhielten die Tiere Rapsextraktionsschrot und nahmen täglich ca. 13,5 mmol GSL auf. In beiden Studien wurde der Jodgehalt in der Milch um zwei Drittel bis drei Viertel vermindert. Aus diesen Daten ist wissenschaftlich nicht zu erkennen, wo die Toleranzgrenze an GSL bei Wiederkäuern liegt. Aus diesem Grund ist die GfE-Empfehlung einer Verdopplung der Jodversorgung von 0,5 mg auf 1 mg/kg TM bei glucosinolathaltigen Futtermitteln in Milchkuhrationen zu überdenken und es sollte eine Erhöhung auf das 4 bis 5 fache diskutiert werden.

Literatur

- BASSLER, R. und H. BUCHHOLZ (2006): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Band II, III, eingeschlossen Ergänzungslieferungen. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, 1993-2006, 309pp
- FECHER, P.A., I. GOLDMANN und A. NAGENGAST (1998): Determination of iodine food samples by inductively coupled plasma mass spectrometry after alkaline extraction. *J. Anal. Atom. Spectrom* 13, 977-982
- FRANKE, K., U. MEYER, H. WAGNER, H.O. HOPPEN und G. FLACHOWSKY (2009): Effect of various iodine supplementations, rapeseed meal application and two different iodine species on the iodine status and iodine excretion of dairy cows. *Livestock Science*, doi:10.1016/j.livsci.200904.012
- GfE (2001): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder. Frankfurt am Main, DLG-Verlag
- 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
- LEITERER, M., D. TRUCKENBRODT und K. FRANKE (2001): Determination of iodine species in milk using ion chromatographic separation and ICP-MS detection. *Eur. Food Res. Technol.* 213, 150-153
- SCHÖNE, F., M. LEITERER, P. LEBZIEN, D. BEMMANN, M. SPOLDERS und G. FLACHOWSKY (2009): Iodine concentration of milk in a dose-response study with dairy cows and implications for consumer iodine intake. *J. Trace Elements Med. Biol.*, doi:10.1016/j.jtemb.2009.02.004
- SCHÖNE, F. und R. RAJENDRAM (2009): Iodine in farm animals. In: V.R. Preedy, G.N. Burrow und R.R. Watson (eds.). *Comprehensive Handbook of Iodine. Nutritional, Pathological and Therapeutic Aspects*, 151-170
- SCHUMANN, W. (2005): Untersuchungen zum Glucosinolatgehalt von in Deutschland erzeugten und verarbeiteten Rapssaaten und Rapsfuttermitteln. *UFOP-Schriften*, Heft 27, 69 S.
- UNIVERSITÄT HOHENHEIM-DOKUMENTATIONSSTELLE (Hrsg.) (1997): *DLG-Futterwerttabellen Wiederkäuer*, DLG-Verlag, Frankfurt a. Main
- VDLUFA (2003): *Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten. Methodenbuch Band VII Umweltanalytik. 2. Auflage, Methode 2.2.2.3.: Bestimmung des Gehaltes an extrahierbarem Jod in Futtermitteln mittels ICP-MS.* VDLUFA-Verlag, Darmstadt

Autorenanschrift

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

Einsatz von getoasteten Sojabohnen in der Ferkelaufzucht

Wolfgang Wetscherek, Karl Schedle und Christiane Mair

Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Inter-universitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien

Fragestellung

Überprüfung des partiellen Ersatzes von Sojaextraktionsschrot durch 10% thermisch behandelte, vollfette Sojabohnen in der Ferkelaufzucht. Dabei wurden für den Lebendmassebereich von 10 bis 30 kg folgende Parameter erhoben:

- Futtermittelaufnahme
- Tageszunahmen
- Futtermittelaufwand je kg Zunahme
- Gesundheitszustand
- Ausfälle

Literatur

In der Literatur wird beim Einsatz von rohen vollfetten Sojabohnen im Ferkelaufzuchtsfutter eine dramatische Leistungsminderung beschrieben. Cook et al. (1988) stellten bei einem kompletten Austausch von Sojaextraktionsschrot durch rohe Sojabohnen bei 7 kg schweren Ferkeln um über 50% geringere Tageszunahmen und etwa 15% verringerte Futtermittelaufnahmen fest. Ähnliche Ergebnisse beobachteten Crenshaw und Danielson (1985) bei 23 kg schweren Ferkeln bei einem vollständigen Austausch des Sojaextraktionsschrotes durch rohe vollfette Sojabohnen mit einer 30% reduzierten Futtermittelaufnahme und 50% geringeren Tageszunahmen. In einem Ferkelaufzuchtversuch von Preißinger et al. (2010) bewirkte der Einsatz mit 10% rohen vollfetten Sojabohnen eine Leistungsminderung um etwa 30%.

Der Einsatz an rohen vollfetten Sojabohnen führte bei einer Menge von 5% zu einer Leistungsminderung von 3% bzw. bei einer Menge von 10% zu einer Verschlechterung des Tageszuwachses um 9,5%. Die gleichen Dosierungen von getoasteten vollfetten Sojabohnen waren problemlos in der Ferkelaufzucht von 13 bis 30 kg Lebendmasse einsetzbar (Wetscherek 1994). Eine weitere Untersuchung von Wetscherek und Zollitsch (1996) zeigte beim Einsatz von 10% getoasteten vollfetten Sojabohnen bessere Tageszuwächse als in der Kontrollgruppe mit Sojaextraktionsschrot. Bei 20% Einsatz war die Wachstumsleistung um 7% geringer als in der Kontrollgruppe.

Die Einsetzbarkeit von vollfetten Sojabohnen in der Ferkelfütterung ist stark abhängig von ihrem Gehalt an Trypsininhibitoren. Dieser ist sortenunterschiedlich und sehr stark durch die Art, Temperatur und Dauer der Hitzebehandlung beeinflusst. Dies zeigten beispielsweise Arbeiten von Zarkadas und Wiseman (2005) oder Varga-Visi et al. (2009).

Versuchsanstellung

Der Versuch wurde am landwirtschaftlichen Betrieb Hannl durchgeführt. Die Tiere stammten vom Versuchsbetrieb. Für jede Gruppe wurden jeweils 52 Ferkel nach Wurf, Geschlecht und Lebendgewicht

ausgesucht und in 2 Boxen mit je 26 Ferkeln aufgeteilt. Je Gruppe wurden 23 Kastraten und 29 weibliche Tiere eingeteilt. Nach dem Absetzen von der Muttersau bekamen alle Ferkel das gleiche Absetzfutter. Der Versuch begann nach der 6. Lebenswoche und endete mit einem Lebendgewicht von etwa 30 kg. Während der Versuchsperiode wurden die Tiere in 4 strohlosen Boxen mit Spaltenböden gehalten.

Fütterung

Die 10% thermisch behandelten Sojabohnen in der Versuchsgruppe ersetzen Sojaextraktionsschrot und Sojaöl. Um eine energie- und rohproteinäquivalente Mischung zu erreichen wurden auch Faserträger in geringen Mengen gegen Getreidekomponenten getauscht. Die Rezepturen werden in der Tabelle 1 bzw. die errechneten Energie- und Nährstoffgehalte in der Tabelle 2 dargestellt. Für den Versuch wurden Sojabohnen der Sorte Merlin verwendet, welche zurzeit in Österreich die am häufigsten in der Tierernährung eingesetzte Sorte darstellt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Ferkelaufzuchtfuttermischungen

Futtermittel, %	Versuchsgruppe	
	Kontrolle	Versuch
Sojaextraktionsschrot HP	21,70	13,50
Sojabohnen getoastet	-	10,00
Mais	28,10	28,90
Weizen	20,00	20,00
Gerste	20,00	20,00
Trockenschnitzel	4,00	3,00
Lignocellulose	0,50	0,30
Fixkraft Primus F 500	4,00	4,00
Sojaöl	1,70	0,30

Datenerhebungen

- Wägungen: Die Ferkel wurden bei der Einstallung gewogen. Weitere Gewichtsfeststellungen erfolgten nach 3 bzw. 6 Versuchswochen.
- Futtererhebung: Die pro Box und Abschnitt gefressenen Futtermengen wurden aufgezeichnet.
- Futterverwertung: Die Relation der je Box und Abschnitt aufgenommenen Futtermengen zur Summe der Lebendgewichtszunahmen der Tiere je Box wurde berechnet.

Behandlungen, Ausfälle und Krankheiten: Diese wurden mit Tiernummer, Datum, Gewicht und Ursache festgehalten.

Beurteilung der Durchfallserscheinungen:

- kein Durchfall.
- leichter Durchfall: In der Box war sehr weicher Kot zu finden, Tiere waren nicht verschmutzt und machten keinen kranken Eindruck, sondern waren sehr lebendig und aufgeweckt.
- mittlerer Durchfall: In der Box war flüssiger Kot zu finden, Tiere waren nicht verschmutzt und machten keinen kranken Eindruck, sondern waren lebendig und aufgeweckt.
- schwerer Durchfall: In der Box war flüssiger Kot zu finden, Tiere waren verschmutzt und machten einen kranken Eindruck.

Tabelle 2: Errechneter Energie- und Nährstoffgehalt der Ferkelaufzuchtfuttermischungen

bezogen auf kg FM	Versuchsgruppe	
	Kontrolle	Versuch
Trockensubstanz, g	876	880
Rohprotein, g	173	171
Rohfaser, g	37	37
Rohfett, g	37	41
Polyensäuren, g	22,2	24,6
Umsetzb. Energie (ME), MJ	13,16	13,15
Lysin, g	11,87	11,79
Methionin+ Cystin, g	7,02	6,95
Lysin: MJ ME	0,90	0,90
verd. Lysin: MJ ME	0,81	0,79
Calcium, g	7,9	7,8
Phosphor, g	4,9	5,0
verd. Phosphor mit Phytase	3,4	3,5
Natrium, g	1,9	1,9

Futteranalysen

Die Futtermischungen und die Sojabohnen bzw. der Sojaextraktionsschrot wurden jeweils auf Trockenmasse, Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Rohasche, Stärke und Zucker untersucht sowie der Gehalt an Umsetzbarer Energie berechnet. Der Gehalt an Trypsininhibitoren wurde in den Sojabohnen bzw. dem Sojaextraktionsschrot bestimmt.

Statistische Auswertung

Die Lebendmasseentwicklung und die Tageszunahmen wurden mit einer zweifachen Varianzanalyse für die fixen Effekte der Gruppe und des Geschlechtes mit dem Statistikpaket SAS berechnet.

Ergebnisse

Analysenergebnisse

Die in Tabelle 3 gezeigten Nährstoffgehalte von Sojaextraktionsschrot HP bzw. getoasteter vollfetter Sojabohne entsprachen den Werten der Literatur. Die Trypsininhibitoraktivität des Sojaextraktionsschrotes entsprach den Literaturwerten. Die thermische Behandlung der Sojabohne für die Versuchsgruppe bedingte eine Reduktion der Trypsininhibitoraktivität in einen Bereich, der eine gute Einsetzbarkeit des Futtermittels ermöglichte.

Die Analysenergebnisse der Ferkelaufzuchtfuttermischungen entsprachen den errechneten wertbestimmenden Bestandteilen. Zwischen den beiden Mischungen traten keine nennenswerten Unterschiede auf, beide Gruppen wurden daher gleich und laut Bedarfsanforderungen ausreichend mit Nährstoffen versorgt (Tabelle 4).

Tabelle 3: Analysenergebnisse von Sojaextraktionsschrot bzw. thermisch behandelter Sojabohne

bezogen auf kg FM	Sojaextraktionsschrot	getoastete Sojabohne
Trockensubstanz, g	889	925
Rohprotein, g	457	356
Rohfett, g	27	207
Rohfaser, g	36	83
Rohasche, g	66	48
Stärke, g	65	63
Zucker, g	101	86
ME, MJ	14,50	16,13
Trypsininhibitoraktivität, g/kg	1,7	4,8

Tabelle 4: Analysenergebnisse der Ferkelaufzuchtfuttermischungen

bezogen auf kg FM	Versuchsgruppe	
	Kontrolle	Versuch
Trockensubstanz, g	899	900
Rohprotein, g	179	177
Rohfett, g	42	48
Rohfaser, g	40	40
Rohasche, g	56	58
Stärke, g	718	427
Zucker, g	37	38
ME, MJ	13,67	13,76

Tabelle 5: Statistische Auswertung der zootechnischen Leistung der Aufzuchtferkel

Merkmal	Versuchsgruppe		s	P-Wert
	Kontrolle	Versuch		
Lebendmasse, kg				
Versuchsbeginn	10,52	10,67	0,12	0,3715
17. Versuchstag	19,24	19,29	0,23	0,8713
35. Versuchstag	31,39	31,45	0,34	0,9011
Tageszunahmen, g				
1. bis 17. Versuchstag	513	507	8,23	0,6032
17. bis 35. Versuchstag	675	675	9,19	0,9790
1. bis 35. Versuchstag	596	594	7,48	0,7907
Futtermittelverbrauch, kg				
1. bis 17. Versuchstag	1,92	2,01		
17. bis 35. Versuchstag	1,76	1,76		
1. bis 35. Versuchstag	1,82	1,86		

Zootechnische Leistungen

Während des Versuches traten keine gesundheitlichen Probleme auf und es wurde kein Auftreten von Durchfall registriert. Alle Versuchstiere beendeten den Versuch. Die Leistungsparameter beider Gruppen lagen auf sehr hohem Niveau. Wie in der Tabelle 5 dargestellt unterschieden sich die Tageszu-

wächse und der Futteraufwand nur minimal. Es konnte daher kein negativer Einfluss des Einsatzes von 10% thermisch behandelte, vollfetter Sojabohne in der Ferkelaufzuchtphase festgestellt werden.

Zusammenfassung

Bei der Überprüfung der Einsatzmöglichkeit von thermisch behandelten, vollfetten Sojabohnen in der Ferkelaufzucht im Vergleich zu einer negativen Kontrollgruppe mit Sojaextraktionsschrot im Gewichtsbereich 10 bis 30 kg wurden die Effekte auf die Tageszunahmen und den Futteraufwand sowie den Gesundheitsstatus erhoben.

- ✓ Es konnten keine negativen Auswirkungen auf den Gesundheitsstatus der Ferkel festgestellt werden.
- ✓ Es traten keine Unterschiede in den Zuwachsleistungen und im Futteraufwand auf.
- ✓ Bei einer ausreichenden thermischen Deaktivierung der Trypsininhibitoren ist der Einsatz von bis zu 10 % vollfetten Sojabohnen in der Ferkelaufzucht von 10 bis 30 kg Lebendmasse problemlos möglich.

Literatur

Cook, D.A., Jensen, A.H., Fraley, J.R., Hymowitz, T. 1988: Utilization by Growing and Finishing Pigs of Row Soybeans of Low Kunitz Trypsin Inhibitor Content. *J. Anim. Sci.* 66,1686-1691

Crenshaw, M.A., Danielson, D.M. 1985: Row soybeans for growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 66, 725-730

Preißinger, W., Linder Mayer, H., Propstmeier, G., Bauer, A. 2010: Rohe Vollfettsojabohnen in der Ferkelaufzucht und Schweinemast. *LfL Tierernährung*

Varga-Visi, E., Albert, Cs., Loki, K., Csapo, J. 2009: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *Acta Univ. Sapientiae Alimentaria* 2,1,111-117

Wetscherek, W. (1994): Einsatz von rohen bzw. getoasteten Sojabohnen in der Ferkelaufzucht. *VDLUFA-Schriftenreihe* 38,839-842

Wetscherek, W., Zollitsch, W. 1996: Einsatz von thermisch behandelten, vollfetten Sojabohnen in der Ferkelaufzucht. *Der Förderungsdienst –Spezial* 44,4, 5-7

Zarkadas, L.N., Wiseman, J. 2005: Influence of processing of full fat soya beans included in diets for piglets. I. Performance. *Animal Feed Science and Technology* 118, 109-119

Autorenanschrift

Ao. Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Wetscherek
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel, und Ernährungsphysiologie
Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie
Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11, 1190 Wien
e-mail: wolfgang.wetscherek@boku.ac.at

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*

Überprüfung der DLG Fütterungsempfehlungen für 750 bzw. 950 g tägliche Zunahmen bei Mastschweinen bayerischer Genetik

Wolfgang Preißinger, Hermann Lindermayer und Günther Propstmeier

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub/Schwarzenau, Deutschland

Einleitung

In der DLG Broschüre „Erfolgreiche Mastschweinefütterung“ werden Richtwerte zu den Nährstoffgehalten im Futter für Mastschweine gestaffelt nach 750, 850 und 950 g täglichen Zunahmen angegeben (DLG-Kompakt, 2010). Danach passen bei jungen Tieren (ab 28 kg LM) und sehr hohem Zunahmenniveau (950 g/Tag) 11,6 g Lysin/kg Futter bzw. 0,86 g Lysin/MJ ME. Für „bayerische Ansatzleistungen“ von 750 g/Tag reichen in der Anfangsmast 10,5 g Lysin/kg Alleinfutter bzw. 0,80 g Lysin/MJ ME. Demgegenüber wird gegen Ende der Mast (ab 90 kg LM) bei 950 g täglichen Zunahmen mit 7,5 g Lysin/kg Futter eine geringere Empfehlung ausgesprochen als bei 750 g mit 8 g Lysin/kg.

In einem Fütterungsversuch mit bayerischer Genetik („Bayernhybrid“) sollten bei freier Futteraufnahme die neuen Empfehlungen für 950 g Zunahmen mit den Empfehlungen für 750 g tägliche Zunahmen verglichen werden. Es wurde nicht erwartet, dass die magerfleischbetonten und relativ fressfaulen bayerischen Schweine mit der 950 g-Futterkurve zu „Turboschweinen“ werden und entsprechend im Fleischansatz bzw. Magerfleischanteil nachlassen. Folgende Versuchsfragen sollten beantwortet werden:

- Welche Leistungen (Futteraufnahme, Zunahmen, Futteraufwand, Tiergesundheit) werden bei Zugrundelegung der „950 g-Empfehlung“ im Vergleich zu der „750 g-Empfehlung“ tatsächlich erzielt?
- Wie hoch sind Futterverbrauch und –kosten in den einzelnen Fütterungsabschnitten und gesamt?
- Gibt es Auswirkungen auf die Schlachtkörperqualität?

Material und Methoden

Die Untersuchung wurde am Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum Schwarzenau durchgeführt und bestand aus einem Mastversuch bis zu einem angestrebten Mastendgewicht von ca. 120 kg. Für den Versuch wurden 192 Ferkel der Rasse Pi x (DL x DE) nach Lebendmasse, Abstammung und Geschlecht ausgewählt und gleichmäßig auf zwei Gruppen (750 g- bzw. 950 g-Empfehlung) aufgeteilt. Die Mastschweine wurden in 16 Buchten zu je 12 Tieren auf Betonspalten ohne Einstreu gehalten, sie waren zu Versuchsbeginn im Durchschnitt 74 Tage alt und wogen 32,6 kg. Pro Behandlungsgruppe wurden 2 Buchten mit weiblichen Tieren, 2 Buchten mit männlich kastrierten Tieren und 4 Buchten gemischtgeschlechtlich aufgestellt. Die Fütterung erfolgte am Langtrog mit Trogsensor und separaten Flüssigfütterungsanlagen (Fa. Schauer) für jede Behandlungsgruppe. Die Flüssigfuttermengen wurden für jede Bucht automatisch verwogen, die Lebendmassen wurden wöchentlich 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 Anfangs- (AM), Mittel- (MM) 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, 2008). Zur Bestimmung der Preiswürdigkeiten wurden aktuelle Zukaufpreise zugrunde gelegt. Nach Mastende wurden für jede Behandlungsgruppe Gülleproben gezogen und der Gülleanfall ermittelt. Die Analyse der Gülleproben wurde im Labor der Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen (AQU 1) in Freising nach VDLUFA-Richtlinien durchgeführt.

Die Rationen aus Weizen, Gerste, Sojaextraktionsschrot und Mineralfutter kamen sehr nahe an die Zielvorstellungen heran und sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Versuchsrationen und analysierte Inhaltswerte

Futter/ Inhaltsstoffe	„Fleischschweine“ 750 g-Empfehlung			„Schnellwüchser“ 950 g-Empfehlung		
	AM 10,5 g Lys ab 28 kg	MM 9,0 g Lys ab 70 kg	EM 8,0 g Lys ab 90 kg	AM 11,6 g Lys ab 28 kg	MM 9,0 g Lys ab 70 kg	EM 7,5 g Lys ab 90 kg
Weizen	50	50	50	50	50	50
Gerste	31	32,5	34	27	32,5	36,5
Soja 48	16	15	13,5	20	15	11,5
Min. Futter, AM (22/3/5,5/10/2/2-Phyt)	3	--	--	3	--	--
Min. Futter, MM (22/3/5,5/7/1,5/1-Phyt)	--	2,5	--	--	2,5	--
Min. Futter, EM (25/1/6/5/1/1-Phyt)	--	--	2,0	--	--	2,0
Preis/dt	€ 22,12	21,51	20,81	22,76	21,51	20,58
ME ²⁾	MJ 13,37	13,35	13,37	13,35	13,29	13,36
Rohprotein	g 187	171	151	194	171	149
Lys	g 10,68	9,09	7,94	11,67	9,10	7,53
Met	g 3,11	2,90	2,80	3,60	2,93	2,70
M+C	g 6,10	5,88	5,97	6,74	5,96	5,58
Thr	g 6,90	5,91	5,67	7,50	6,01	5,27
Trp	g 2,34	2,01	1,92	2,52	2,02	1,90
Stärke	g 449	450	507	435	456	496
Rohfett	g 23	24	22	22	23	25
Rohfaser	g 31	36	33	30	37	36
Rohasche	g 56	53	41	66	48	44
Ca	g 9,1	7,8	7,0	9,0	7,7	7,2
P	g 4,8	4,5	4,1	5,1	4,5	3,9

¹⁾ Preise inkl. MwSt. und Mahlen/Mischen: Getreide 18 €/dt, Soja 48 34 €/dt, AM-Mifu 70 €/dt, MM-Mifu 62,5 €/dt, EM-Mifu 55 €/dt

²⁾ Aus Verdauungsversuch mit 4 Tieren/Futternotyp

Die Mischungen waren in sich homogen, die Energiekonzentrationen passten zu den Inhaltsstoffen speziell zu den Aminosäuren und umgekehrt. Die Staffelung der Aminosäurekonzentration zwischen den Versuchsgruppen (750g-/950 g-Empfehlung) und innerhalb der Gruppen (3- Phasenfütterung) wurde durch Austausch von Sojaextraktionsschrot gegen Gerste erreicht.

Ergebnisse und Diskussion

Das Leistungsniveau lag in beiden Versuchsgruppen bei ca. 800 g täglichen Zunahmen mit leichtem Vorsprung (+3 g) der „750 g-Empfehlung“ (vgl. Tabelle 2). Die Gruppen wechselten sich im Verlauf der Mast in der Führung ab. Zu Mastbeginn (+28 g/Tag) lag die „950 g-Empfehlung“ vorne, in der Mittelmast und Endmast kompensierte die „750 g-Empfehlung“ (+23 bzw. +38 g/Tag).

Tabelle 2: Aufzucht- und Mastleistungen (LSQ-Werte)

Mastleistung	Einh.	„Fleischschwein“ 750 g-Empfehlung	„Schnellwüchser“ 950 g-Empfehlung	Sign. p < 0,05
Tierzahl	n	96	96	-
Masttage	n	107	108	-
Lebendmasse				
Anfang	kg	32,5	32,7	0,673
Phase 2	kg	68,3	69,8	0,119
Phase 3	kg	93,6	94,5	0,453
Ende	kg	117,7	119,2	0,144
Zuwachs	kg	85,2	86,5	0,221
Zunahmen/Tag				
Phase 1	g	730	758	0,051
Phase 2	g	905	882	0,171
Phase 3	g	818	780	0,068
gesamt	g	801	798	0,827
Futter-/Energieverzehr/Tag (88 % T)				
Anfang	kg/MJ	1,75/23,4	1,73/23,2	0,801
Mitte	kg/MJ	2,42/32,4	2,40/32,0	0,838
Ende	kg/MJ	2,58/34,5	2,64/35,2	0,588
gesamt	kg/MJ	2,21/29,6	2,23/29,7	0,869
Futter-/Energieaufwand (kg Futter/kg Zuwachs bzw. MJ ME/kg Zuwachs)				
Anfang	1:	2,40/32,0	2,30/30,6	0,030
Mitte	1:	2,67/35,7	2,73/36,4	0,596
Ende	1:	3,60/48,1	3,59/47,9	0,976
gesamt	1:	2,78/37,0	2,81/37,5	0,583
Futter-/Energieverwertung (g Zunahmen pro kg Futter bzw. pro MJ ME)				
Anfang	g	417/31,3	437/32,8	0,029
Mitte	g	375/28,1	368/27,6	0,587
Ende	g	291/21,8	293/21,9	0,942
gesamt	g	360/27,0	356/26,7	0,614
Futterkosten	€	51,58 (100)	52,17 (101)	
Ausscheidungen pro Mastschwein				
Stickstoff	kg	4,38 (100)	4,45 (102)	-
Phosphor	g	646 (100)	652 (101)	-
Lysin/Ms	g	2227	2228	-
HP-Soja/Ms	kg	35,6 (100)	37,4 (105)	-

Zahlen in Klammern relativ zur 750 g Empfehlung

Die Futter- bzw. ME-Aufnahme lagen in beiden Gruppen gleich hoch ebenso die entsprechenden Verwertungsraten. Die signifikant höheren Zunahmen der „950 g-Empfehlung“ in der Anfangsmast wurden von der „750 g-Empfehlung“ v.a. in der Mittelmast wieder ausgeglichen. Insgesamt verzehrten die

Schweine beider Gruppen die gleichen Lysinmengen – 2221 g („750 g-Empfehlung“) bzw. 2228 g („950 g-Empfehlung“).

Die Schlachtergebnisse lagen durchgehend auf einem hohen Niveau (Tabelle 3). Für die „950 g-Empfehlung“ mit mehr Lysin in der Anfangsmast deutete sich ein Vorteil bei den Fleischparametern an. Sowohl die Fleischfläche als auch das Fleischmaß und der Fleischanteil im Bauch waren leicht erhöht. Im Widerspruch zu der klaren Linie im Fleischansatz verhielten sich die Fettparameter Fettfläche und Speckmaß gegensätzlich.

Tabelle 3: Schlachtleistungen (LSQ-Werte)

Schlachtparameter		„Fleischschwein“ 750 g-Empfehlung	„Schnellwüchser“ 950 g-Empfehlung	Sign. p < 0,05
Schlachtgewicht	kg	93,7	94,9	0,188
Fleischfläche	cm ²	56,7	57,3	0,460
Fettfläche	cm ²	17,2	16,5	0,125
Fleisch/Fett	1:	0,31	0,29	0,166
Speckmaß	mm	13	14	0,292
Fleischmaß	mm	70	72	0,118
Fleisch i. Bauch	%	56,9	57,7	0,201
Muskelfleisch	%	59,5	59,9	0,213

In Abbildung 1 sind die Mast- und Schlachtleistungsergebnisse sowie die Futterkosten und der Verbrauch an Sojaextraktionsschrot relativ zur 750 g-Empfehlung dargestellt.

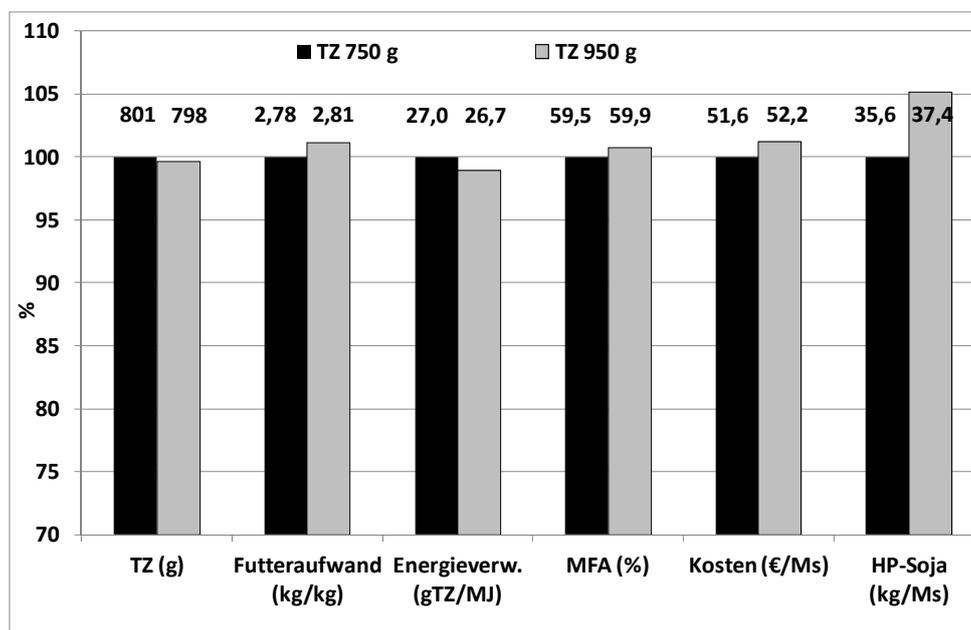


Abbildung 1: Mastleistungen, Muskelfleisch, Futterkosten und Sojaverbrauch (750 g = 100)

Pro Mastschein fielen in der „750 g-Empfehlung“ 0,60 m³ Gülle mit 4,1 % T an, in der „950 g-Empfehlung“ waren es 0,62 m³ mit 4,0 % T. Bezogen auf den praxisüblichen T-Gehalt von 3,5 % für Schweinegülle errechnet sich daraus ein Gülleanfall von 0,70 m³ („750 g-Empfehlung“) bzw. 0,71 m³

(„950 g-Empfehlung“) pro Tier. Durch die Anlage von Kotplätzen waren die Güllekanäle unterhalb einer Buchtenreihe unterschiedlich gefüllt. Auch die T-Gehalte und die Konsistenz der Gülle in den Kanälen unterhalb einer Bucht waren sehr unterschiedlich. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse aus je 2 Untersuchungen pro Behandlung standardisiert auf einen T-Gehalt von 4 % zusammengestellt. Die Werte für P₂O₅ und K₂O und MgO liegen im mittleren Bereich, Gesamt-N und NH₄-N liegen oberhalb der Standardangaben der Gruber Futterwerttabelle (Lfl, 2011). Mit durchschnittlich 140 mg/kg T liegen die Kupfergehalte niedriger als im bayerischen Güllemonitoring (Müller, 2006). Dort wiesen 85 % aller schweinehaltenden Betriebe Kupfergehalte von über 200 mg/kg T auf. Laut bayer. Güllemonitoring lagen nur bei 5-10 % der Schweinegülle die Zink-Gehalte unter 500 mg/kg T. Der Durchschnittswert der vorliegenden Untersuchung beträgt 841 mg/kg T und liegt somit im mittleren Bereich des Güllemonitorings, wo Werte bis 1500 mg/kg T analysiert wurden. Man darf allerdings nicht übersehen, dass in der bayer. Gesamterhebung viele Ferkelerzeugerbetriebe mit futtermittelrechtlich erlaubten, aber deutlich höheren Spurenelementgehalten im Ferkelfutter dabei sind.

Tabelle 4: Güllemenge und Gülleinhaltsstoffe je m³ Gülle (2 Analysen, Angaben standardisiert auf 4 % T)

Güleinhaltsstoffe/m ³		„Fleischschwein“ 750 g-Empfehlung	„Schnellwüchser“ 950 g-Empfehlung
Gülle/Mastschwein	m ³	0,62	0,62
Trockenmasse	%	4,1 (4,0 – 4,3)	4,0 (3,4 – 4,6)
pH		7,6	7,7
Org. Substanz	kg	29,1	28,5
N-gesamt	kg	5,0	5,2
NH ₄ -N	kg	4,3	4,2
K ₂ O	kg	2,3	2,4
MgO	kg	1,0	1,0
CaO	kg	1,7	1,8
Na	kg	0,4	0,4
P ₂ O ₅	kg	2,2	2,2
S	kg	0,3	0,3
Cu	g	5,8	5,5
Zn	g	33,5	33,8
Mn	g	36,0	36,2
Fe	g	70,1	71,2

Schlussfolgerungen

Die 950 g „Schnellwüchser“-Rationen mit stark erhöhten Lysingehalten in der Anfangsmast (11,7 statt 10,7 g/kg) und mäßiger Zusatzabsenkung in der Endmast (7,5 statt 8,0 g/kg) erbrachte bezüglich der Mastleistungen gegenüber den „Fleischschweineempfehlungen“ mit 750 – 800g Tageszunahmen und mehr als 59 % Magerfleisch im Ziel keine Vorteile. Es wurden jeweils 800 g Tageszunahmen, 2,8 kg Futterraufwand je kg Zuwachs und knapp 60 % Muskelfleisch erreicht. Da durch den erhöhten Sojaverbrauch in der 950 g-Empfehlung die Futterkosten (plus 0,59 €/Ms) und auch die Umweltbelastung anstiegen, sollte an der „750 er-Strategie“ mit weniger Lysin im Futter für Genetiken mit sehr hohem Proteinansatzvermögen aber weniger Wuchs/Verzehrvermögen festgehalten werden.

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

LfL (2011): Futterberechnung für Schweine, 18. Auflage, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft

Müller, C. (2006): Schwermetalle und Spurenelemente in Gülle, LfL-Schriftenreihe 12/2006, S. 29-36

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

Optimisation of the amino acid ratios in mineral feed for pigs improves nitrogen retention and carcass quality

Holger Kluge¹, Jörg Bartelt², Ulrich Geier³ and Gabriele I. Stangl¹

¹ Institute of Agricultural and Nutritional Science, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg

² Lohmann Animal Health GmbH

³ Josera GmbH & Co. KG

Introduction

Feed producers should supplement the mineral feed for pigs with amino acids to optimise the amino acid (AA) composition of the diet. This study aimed to investigate whether an optimised amino acid-supplemented mineral feed (OAAMF) which was characterized by higher ratios of lysine to threonine, lysine to valine and lysine to tryptophan could improve performance parameters and N retention of piglets and growing pigs compared to a standard mineral feed (SMF) supplemented with amino acids according to the recommendations of GfE (2006).

Materials and methods

A total of 130 piglets [(German Landrace x German Edelschwein) x Pietrain] were used for this study. The animals were weaned at the age of 4 weeks and divided into 2 groups of 65 animals (males and females) each. The piglets were kept in flat-deck pens. A total of 5 replicates of 13 piglets each received either a diet with standard mineral feed (SMF) or with an optimized amino acid-supplemented mineral feed (OAAMF). During the first two weeks of the experiment all animals received pre-starter diets then they were fed starter diets for the following four weeks. The pre-starter and starter diets were supplemented with 4 % mineral feed for piglets, either Josera standard or Josera aminoplus (Tab. 1). The calculated ratio of standard ileal digestible (SID) lysine to SID threonine, Met+Cys, valine and tryptophan, respectively, was 1:0.59:0.57:0.59:0.17 in the standard diet and 1:0.64:0.61:0.71:0.22 in the standard plus diet (Tab. 1). After 3 weeks of the experiment one representative male piglet per pen was transferred to metabolism cages. After a one-day acclimatization period, feed, urine and faeces were collected quantitatively over five days to calculate nitrogen retention.

At the end of the piglet experiment 25 male piglets per treatment were transferred to a finishing barn with 50 single pens. The experimental period was divided in an early grower period (28 days, 28-50 kg), a grower period (28 days, 50-80 kg) and a finisher period (28 days, 80-110 kg). During these periods the animals received the experimental diets that were shown in Table 2. The diets were supplemented with 3 % mineral feed for hogs, either Josera standard (SMF) or Josera aminoplus (OAAMF). Five female animals per treatment from the piglet experiment were fed the same diets as the male pigs in the fattening period. After two weeks of the grower period these female animals were transferred to metabolism cages. Urine was collected via a catheter and faeces and feed were collected quantitatively over five days to estimate the nitrogen retention. The N-retention was only measured in the grower period. At the end of the fattening experiment the animals were slaughtered to estimate the carcass quality with FAT-O-METER (FOM). All diets were prepared at the experimental

station Merbitz and were provided in pellet form during the piglet experiment and in mash form during the fattening experiment. All diets were offered ad libitum.

Table 1: Composition of the experimental piglet diets and analyzed AA and crude protein contents of the pre-starter and starter diets

Ingredient (%)	Pre-starter period		Starter period	
	SMF	OAAMF	SMF	OAAMF
Wheat	30	30	31	31
Barley	24	24	25	25
Corn	9.95	9.95	14.97	14.97
Soybean meal (48 CP)	11	11	20	20
Whey-fat-concentrate	8	8	4	4
Soybean concentrate	10	10	0	0
Wheat semolina bran	2	2	0	0
Soybean oil	1	1	1	1
DL-methionine	0.05	0.05	0.03	0.03
Josera standard ¹	4	0	4	0
Josera aminoplus ²	0	4	0	4
Analyzed AA and CP (g/kg) and calculated ME (MJ/kg) and SID amino acids (g/kg)				
Metabolizable energy	14.16	14.16	13.82	13.82
Crude protein	197	201	194	188
Lysine	13.4	13.6	13.2	12.7
SID Lysine	12.6	12.6	11.3	11.3
Met+Cys	7.3	7.9	7.2	7.4
SID Met+Cys	7.1	7.5	6.5	6.9
Threonine	8.2	8.8	7.8	8.1
SID Threonine	7.4	8.0	6.7	7.3
Valine	8.7	10.2	8.7	9.4
SID Valine	7.4	8.8	6.7	8.1
Tryptophan	2.54	2.86	2.54	2.70
SID Tryptophan	2.1	2.7	1.9	2.5
SID Lys:Thr	0.59	0.63	0.59	0.64
SID Lys: Met/Cys	0.56	0.59	0.57	0.61
SID Lys:Val	0.59	0.70	0.59	0.71
SID Lys:Trp	0.17	0.22	0.17	0.22

¹Mineral feed per kg: calcium 150 g, phosphorus 40 g, sodium 40 g, lysine 110 g, methionine 40 g; threonine 45 g, tryptophan 5 g, vitamin A 500000 IE, vitamin D3 50000 IE, vitamin E 3300 mg, vitamin K 125 mg, vitamin B1 70 mg, vitamin B2 150 mg, vitamin B6 130 mg, vitamin B12 1700 µg, biotin 6 mg, folic acid 40 mg, nicotinic acid 1700 mg, pantothenic acid 500 mg, cholin chloride 17500 mg, iron 3400 mg, manganese 1000 mg, zinc 2000 mg, copper 600 mg, iodine 50mg, selenium 10 mg, cobalt 11mg, phytase 12500 FTU, xylanase 250 U, lactobacillus 20(*E9) KBE, calciumformiate70 g, wheat semolina bran 10 g.

²Mineral feed per kg: calcium 150 g, phosphorus 40 g, sodium 40 g, lysine 110 g, methionine 50 g; threonine 60 g, tryptophan 15 g, vitamin A 500000 IE, vitamin D3 50000 IE, vitamin E 3300 mg, vitamin K 125 mg, vitamin B1 70 mg, vitamin B2 150 mg, vitamin B6 130 mg, vitamin B12 1700 µg, biotin 6 mg, folic acid 40 mg, nicotinic acid 1700 mg, pantothenic acid 500 mg, cholin chloride 17500 mg, iron 3400 mg, manganese 1000 mg, zinc 2000 mg, copper 600 mg, iodine 50mg, selenium 10 mg, cobalt 11mg, phytase 12500 FTU, xylanase 250 U, lactobacillus 20(*E9) KBE, calcium formiate100 g.

Table 2: Composition of the experimental diets during the fattening period and analyzed AA and crude protein content of the early grower, grower and finisher diets

Ingredient (%)	Early Grower		Grower		Finisher	
	SMF	OAAMF	SMF	OAAMF	SMF	OAAMF
Wheat	34.7	34.7	42.0	42.0	35	35
Barley	38.0	38.0	41.0	41.0	55	55
Corn	6.0	6.0	0	0	0	0
Soybean meal (48 CP)	17.0	17.0	13	13	7	7
Soybean oil	1.3	1.3	1.0	1.0	0	0
Josera standard ¹	3.0	0	3.0	0	3.0	0
Josera aminoplus ²	0	3.0	0	3.0		3.0
Analyzed AA and CP (g/kg) and calculated ME (MJ/kg) and SID amino acids (g/kg)						
ME	13.50	13.50	13.34	13.34	12.92	12.92
Crude protein	178	180	174	170	148	145
Lysine	10.7	10.9	10.2	10.0	8.4	8.2
SID Lysine	9.5	9.5	8.7	8.7	7.4	7.4
Met+Cys	5.9	6.1	5.9	5.9	5.2	5.2
SID Met+Cys	5.3	5.4	5.1	5.2	4.6	4.8
Threonine	6.6	7.1	6.2	6.5	5.3	5.6
SID Threonine	5.6	6.2	5.2	5.8	4.5	5.1
Valine	8.1	8.3	7.6	7.7	6.6	6.7
SID Valine	6.6	6.9	6.1	6.4	5.3	5.6
Tryptophan	2.3	2.4	2.2	2.3	1.9	2.0
SID Tryptophan	1.8	2.0	1.7	1.9	1.5	1.7
SID Lys:Thr	0.59	0.65	0.60	0.67	0.61	0.69
SID Lys: Met/Cys	0.56	0.57	0.59	0.60	0.62	0.65
SID Lys:Val	0.69	0.73	0.70	0.74	0.72	0.76
SID Lys:Trp	0.19	0.21	0.19	0.22	0.20	0.23

¹Mineral feed per kg: calcium 208 g, phosphorus 30 g, sodium 50 g, magnesium 34, lysine 100 g, methionine 25 g; threonine 30 g, tryptophan 1 g, vitamin A 500000 IE, vitamin D3 50000 IE, vitamin E 3300 mg, vitamin K 125 mg, vitamin B1 70 mg, vitamin B2 150 mg, vitamin B6 130 mg, vitamin B12 1700 µg, biotin 6 mg, folic acid 40 mg, nicotinic acid 1700 mg, pantothenic acid 500 mg, cholin chloride 17500 mg, iron 3400 mg, manganese 1000 mg, zinc 2000 mg, copper 600 mg, iodine 50mg, selenium 10 mg, cobalt 11mg, phytase 12500 FTU

²Mineral feed per kg: calcium 203 g, phosphorus 30 g, sodium 45 g, magnesium 30, lysine 100 g, methionine 30 g; threonine 50 g, valine 10 g, tryptophan 7 g, vitamin A 500000 IE, vitamin D3 50000 IE, vitamin E 3300 mg, vitamin K 125 mg, vitamin B1 70 mg, vitamin B2 150 mg, vitamin B6 130 mg, vitamin B12 1700 µg, biotin 6 mg, folic acid 40 mg, nicotinic acid 1700 mg, pantothenic acid 500 mg, cholin chloride 17500 mg, iron 3400 mg, manganese 1000 mg, zinc 2000 mg, copper 600 mg, iodine 50mg, selenium 10 mg, cobalt 11mg, phytase 12500 FTU,

All feedstuffs were analysed for amino acid concentration before starting the experiment to calculate the amino acid composition of the diets. The (SID) Amino acids were calculated on the basis of GfE (2006). The amino acids in the diets were separated by ion exchange chromatography and quantified by photometrical detection in the laboratory of Ajinomoto Eurolysine S.A.S.. Prior to analysis, tryptophan was subjected to alkaline hydrolysis and then quantified by reverse phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection (Ajinomoto Eurolysine S.A.S.). Fresh faeces and urine were analysed for crude protein (Kjeldahl-N x 6.25) by the Kjeltex system (Foss, Germany). All data were statistically treated by an analysis of variance (Statistica 7.0 for Windows Operating System). Means of $p < 0.05$ were considered significant.

Results and discussion

Tables 1 and 2 show that the OAAMF diets had higher analyzed concentrations of methionine, threonine, valine and tryptophan than the SMF diets. SMF and OAAMF diets had comparable contents of lysine, except for the starter diet. The SID lysine content in the piglet diets was higher than that recommended by NRC 1998. However, 0.89 g SID Lys/MJ ME which was used in the pre-starter diet and 0.82 g SID/MJ ME which was used in the starter diet corresponded to the recommendations of GfE (2006). The results of the performance parameters of the pre-starter and starter periods are summarised in Table 3. The OAAMF diet did not provide any additional effect on performance parameters compared to the SMF diet. However, N-retention data make clear that optimised amino acid supplementation may lead to higher N-retention than the SMF diet (Tab. 4).

Table 3: Performance data of piglets during the six-week period of the experiment

Parameter	SMF	OAAMF	SEM	P-value
Pre-starter period (week 1-2)				
Initial body weight (kg)	9.6	9.4	0.15	0.696
Final body weight (kg)	12.3	12.3	0.12	0.861
Daily weight gain (g/d)	193	213	7.33	0.180
Daily feed intake (g/d)	270	291	7.59	0.193
Feed:gain (kg/kg)	1.40	1.38	0.04	0.824
Starter period (week 3-6)				
Daily weight gain (g/d)	590	590	9.27	0.981
Daily feed intake (g/d)	881	883	12.99	0.939
Feed:gain (kg/kg)	1.49	1.50	0.01	0.925
Final body weight (kg)	28.2	28.4	0.28	0.721
Pre+Starter period (week 1-6)				
Daily weight gain (g/d)	454	462	7.84	0.620
Daily feed intake (g/d)	677	686	10.08	0.706
Feed:gain (kg/kg)	1.49	1.48	0.01	0.769

Table 4: Faecal and urinary excretion and retention of nitrogen in the starter period

Parameter	SMF n=5	OAAMF n=4	SEM	P-value
N-intake (g/d)	15.23	15.28	0.27	0.931
N-excretion				
Urine (g/d)	2.94	2.69	0.26	0.663
faeces (g/d)	1.96	1.61	0.19	0.375
N-retention (g/d)	10.32	10.98	0.17	0.045
N-retention (%)	68.1	72.0	1.92	0.343

The results of the performance parameters of the fattening periods are summarised in Table 5.

The daily weight gain of the fattening pigs tended to be higher in the group fed the diet with standard mineral feed compared to the group fed mineral feed with optimized amino acid supplementation ($p < 0.1$). However, pigs that received OAAMF diet which contained higher amounts of Met, Thr, Trp and Val had a significant higher N-retention than pigs fed SMF diet (Tab. 6).

Table 5: Performance of fattening pigs over three feeding periods

	SMF n=25	OAAMF n=25	SEM	P-value
Early grower period				
Initial weight (kg)	29.7	29.3	0.43	0.6608
Body weight week 4 (kg)	53.1	52.7	0.62	0.7408
Daily weight gain (g/d)	836	833	10.66	0.8690
Daily feed intake (g/d)	1606	1607	23.19	0.9709
Feed:gain (kg/kg)	1.92	1.93	0.01	0.7405
Grower period				
Body weight week 8 (kg)	86.2	84.1	0.88	0.2509
Daily weight gain (g/d)	1180	1124	15.59	0.0737
Daily feed intake (g/d)	2644	2569	41.76	0.3757
Feed:gain (kg/kg)	2.24	2.29	0.03	0.4162
Finisher period				
Body weight week 12 (kg)	115.6	112.6	0.96	0.1205
Daily weight gain (g/d)	1050	1016	15.35	0.2786
Daily feed intake (g/d)	3042	2881	33.97	0.0163
Feed:gain (kg/kg)	2.91	2.85	0.04	0.4097
Total fattening period				
Daily weight gain (g/d)	1022	991	9.28	0.0956
Daily feed intake (g/d)	2431	2352	28.76	0.1777
Feed:gain (kg/kg)	2.38	2.37	0.02	0.9451

Table 6: Faecal and urinary excretion and retention of nitrogen in the grower period

Parameter	SMF n=4	OAAMF n=4	SEM	P-value
N-intake (g/d)	40.58	39.76	0.59	0.532
N-excretion				
Urine (g/d)	19.83	15.23	1.13	0.025
faeces (g/Tag)	4.33	4.00	0.25	0.562
N-retention (g/Tag)	16.42	20.53	1.12	0.056
N-retention (%)	40.35	51.69	2.84	0.030

The carcass quality data reveal that pigs fed the OAAMF supplemented diets tended to have a higher lean meat ($P=0.065$) and a significant lower back fat thickness than pigs that received the SMF diet (Tab. 7). The calculation of feed costs considered the higher price of the added amino acids in the OAAMF. Nevertheless, the use of OAAMF leads to a profit of 0.29 Euro per animal compared to the use of standard mineral feed (Tab. 7).

Performance data of piglets and fattening pigs did not show any improvement in response to the OAAMF. In general, the total lysine and SID lysine content of the starter piglet diet and the diets for growing pigs were 1.2-2.2 percent point higher than the recommendation of NRC (1998). The relatively high content of lysine together with the narrow ratios of lysine to Met+Cys, Thr, Val and Trp, respectively, in the OAAMF diets for piglets and growing pigs had been shown to be capable of reducing the urinary and faecal output of nitrogen. OAAMF could therefore contribute to lower the nitrogen exposure to the environment. Additionally, based on the carcass data, OAAMF seems to have a body repartitioning effect in favor of lean meat.

Table 7: Carcass quality of the fattening pigs and economic efficiency of the feeding strategy

	SMF n=24	OAAMF n=22	SEM	P
Carcass weight (kg)	91.4	88.9	0.79	0.109
FOM value				
Lean meat (%)	53.98	55.28	0.35	0.065
Meat thickness (mm)	60.87	60.06	0.66	0.549
Back fat thickness (mm)	19.14	17.37	0.45	0.049
Calculation of profit without costs for animals and other fixed costs				
Slaughter proceeds (Euro/animal)	129.97	130.35	1.12	0.867
Feed costs (Euro/animal)	45.37	45.46	0.57	0.938
Profit (Euro/animal)	84.60	84.89	1.01	0.888

Conclusion

Under the current experimental conditions, the OAAMF concept slightly improved daily weight gain (1.8%) and feed:gain ratio (0.6%) of piglets compared to a standard mineral feed. However, the faecal and urinary output of nitrogen was reduced and the N-retention significantly improved in piglets and fattening pigs that received the OAAMF diets. No additional effects of OAAMF were observed on performance parameters of fattening pigs. At the end of the fattening period pigs fed the standard mineral feed had a higher carcass weight (2.8 %) than the OAAMF fed animals. However, pigs fed the OAAMF had a higher lean meat and a smaller back fat thickness than the animals fed the standard mineral feed. The higher feed costs by use of the OAAMF concept result in a higher carcass quality and in consequence to a higher profit surplus.

References

- NRC (1998). Nutrient Requirements of Swine 10th ed. National Academy Press, Washington, DC
- GfE (2006). Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Schweinen. 1. Auflage. Frankfurt am Main, DLG-Verlag

Acknowledgments

The authors thank Ajinomoto Eurolysine S.A.A. for the financial support of the present investigations

Corresponding author

Dr. Holger Kluge
Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften
Von Danckelmann Platz 2
06120 Halle-Saale
E-mail: Holger.Kluge@landw.uni-halle.de

EIN FAN von Tryptophan !



Für einen guten Start benötigen Ferkel ein optimal mit Aminosäuren ausbalanciertes 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 ausbalanciertes 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
Heinz-Lohmann-Strasse 4
D - 27472 Cuxhaven
Tel : +49 (0) 4721 - 747 0
Fax : +49 (0) 4721 - 747 124

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.

Einfluss unterschiedlicher Maiskonservierungsverfahren auf die Phosphorverdaulichkeit beim Mastschwein

Elke Humer und Karl Schedle

Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Phosphor kommt aus tiergesundheitlichen, ökologischen und ökonomischen Gründen eine entscheidende Bedeutung in der Tierernährung zu. Die in Pflanzen am häufigsten vorkommende Form stellt das Phytat (Myo- Inositol- Hexakisphosphat), ein Ester aus Phosphorsäure und Inositol, dar (Greiner und Egli, 2003). Diese Form des Phosphors kann von unseren monogastrischen Nutztieren nur in geringem Maße genutzt werden. Denn für eine Freisetzung von Phosphor und weiteren komplexierten Stoffen aus Phytat bedarf es einer Hydrolyse, welche im schwach sauren pH besonders durch Phytasen katalysiert wird (Lopez et al., 2000; Greiner und Egli, 2003). Aufgrund der negativen Ladung kann Phytinsäure mit verschiedenen Mineralstoffen, vor allem zweiwertigen Kationen wie Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} und Zn^{2+} und auch Nährstoffen wie Proteinen und Stärke Verbindungen eingehen, wodurch auch deren Absorption behindert wird (Brüning, 2009; Cervantes et al., 2010; Pieper et al., 2011).

Beim Schwein kann das Fütterungsmanagement beträchtlich zu einer Verminderung der P-Ausscheidung beitragen (Rodehutsord, 2008). Im getrockneten Mais Korn liegen etwa 60-90% des enthaltenen Phosphors in phytatgebundener Form dar. Durch verschiedene Konservierungsverfahren kann dieser jedoch unterschiedlich stark abgebaut werden (Nuss und Tanumihardjo, 2010).

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss unterschiedlicher Maiskonservierungsverfahren (Trocknung, Maiskornsilierung und Ganzkornsilierung) auf die Phosphorverdaulichkeit beim Mastschwein erhoben.

Material und Methoden

Es wurden neun männliche kastrierte Mastschweine ((Duroc x Landrasse) x Pietrain) am Schedle Research Center (SRC) in Lichtenwörth mit einem Durchschnittsgewicht von $30,81 \pm 2,66$ kg auf neun zur Verfügung stehenden Verdauungskäfige aufgeteilt. Die Zuteilung erfolgte unter möglichst gleichmäßiger Verteilung der Lebendmasse und der Herkunft (Wurf). Die Ermittlung der Phosphorverdaulichkeit erfolgte nach den Richtlinien der GfE (1994) im Lateinischen Quadrat (Tabelle 1).

Die Tiere erhielten die ersten fünf Tage im Maststall zur Akklimatisation ein herkömmliches Mastfutter. Anschließend erfolgte eine 2-tägige Adaptionphase an die Verdauungskäfige. Danach startete die eigentliche Versuchsphase, welche sich aus einer 7-tägigen Vorperiode und einer 7-tägigen Hauptperiode (=Sammelperiode) zusammensetzte. Vor- und Hauptperiode wurden mit jeder Versuchsmischung an alle neun Tiere durchgeführt.

Der für den Versuch verwendete Mais (P9400, Pioneer, Österreich) wurde auf drei unterschiedliche Arten haltbar gemacht: getrocknet (Mais), gemust und anschließend siliert (MKS) bzw. ganzkornsiliert (GKS). Die Konserven wiesen einen Trockenmassegehalt von: Mais 88%, MKS 76% und GKS 74% auf. Dieser wurde mit einer entsprechenden Aminosäure-, Vitamin- und Mineralstoffmischung versetzt, um die Nährstoffbedarfsempfehlungen der GfE (2006) zu erreichen (Tabelle 2). Zur Vermeidung regulato-

risch bedingter Phosphorausscheidungen wurde kein anorganisches Phosphat supplementiert, wodurch der Gehalt an verdaulichem Phosphor suboptimal eingestellt war.

Tabelle 1: Versuchsplan

Durchgang	Tier Nr.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Mais	Mais	Mais	MKS	MKS	MKS	GKS	GKS	GKS
2	GKS	GKS	GKS	Mais	Mais	Mais	MKS	MKS	MKS
3	MKS	MKS	MKS	GKS	GKS	GKS	Mais	Mais	Mais

Tabelle 2: Zusammensetzung der Versuchsmischungen (in Trockenmasse)

Futtermittel	Menge, g/kg
Mais	96,34
L-Lys-HCl	1,05
DL-Met	0,18
L-Thr	0,37
L-Trp	0,17
Futterkalk	1,47
Viehsalz	0,24
Vitaminergänzung ¹	0,09
Spurenelementergänzung ²	0,10

¹ liefert pro kg Versuchsmischung: 10050 mg Vitamin A, 2001 mg Vitamin D₃, 3,31mg Vitamin B₁, 5,33mg Vitamin B₂, 3,68 mg Vitamin B₆, 0,0222 mg Vitamin B₁₂, 3 mg Vitamin K₃, 55,22 mg Nicotinsäure, 0,5049 mg Folsäure, 14,25mg Pantothenensäure, 0,0738 mg Biotin, 500 mg Cholin, 100 mg Vitamin E.

² liefert pro kg Versuchsmischung: 119,34 mg Zn, 24,60 mg Cu, 60,08mg Mn, 0,99 mg Co, 1,23mg J, 0,41mg Se, 119,34 mg Fe

Vor Beginn eines jeden Durchganges wurde die Lebendmasse der Tiere erhoben und danach die Tagesration für den Zeitraum des entsprechenden Versuchsdurchganges auf Basis der Trockenmasse kalkuliert, welche dann dem 2,5- fachen des Erhaltungsbedarfes entsprach. Das Futter wurde zweimal täglich verabreicht und Wasser stand über Nippeltränker *ad libitum* zur Verfügung.

In der Hauptversuchszeit wurde zweimal täglich eine vollständige quantitative Kotsammlung durchgeführt. Die Sammelproben wurden in einer Gefrierzelle bei -20°C aufbewahrt. Am Ende eines jeden Durchganges wurde von dem aufgetauten und sorgfältig homogenisierten Gesamtkot von jedem Tier und Durchgang eine frische Probe zur Trockensubstanzbestimmung entnommen und ein anderer Teil für weitere Analysen gefriergetrocknet.

Zur Kalkulation der Verdaulichkeitsquotienten wurden alle Futtermischungen und Kotproben auf Trockenmasse und den Gehalt an Phosphor (photometrisch nach den offiziellen Methoden der VDLUFA, Naumann und Bassler, 2007) untersucht.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mittels Varianzanalyse mit dem Statistikprogramm SAS (Version 9.2) unter Verwendung der Prozedur Mixed. Als kritisches Signifikanzniveau wurde ein α von 0,05 herangezogen. Ein α von $<0,1$ wurde als statistische Tendenz angesehen. Neben dem fixen Effekt der Versuchsgruppe wurden der Durchgang und der tierindividuelle Einfluss als Zufallseffekte in das Merkmalsmodell aufgenommen. Der Unterschied zwischen den Versuchsgruppen wurde mittels Tukey-Kramer Test ermittelt.

Ergebnisse

Numerisch wiesen die Tiere mit Maiskornsilagefütterung um 16% höhere Tageszunahmen, sowie eine um 24% bessere Futterverwertung im Vergleich zur Verfütterung von getrocknetem Mais auf (Abbildung 1). Bei Ganzkornsilage konnten um 10% höhere Tageszunahmen, sowie eine um 22% bessere Futterverwertung festgestellt werden.

Der Gesamtphosphorgehalt im Mais betrug durchschnittlich 3,3 g/kg TM. Der Phosphorgehalt im Kot war mit 20,9 g/kg TM bei Verfütterung von getrocknetem Mais höher als bei den Versuchsgruppen mit gemustert und anschließend siliertem Mais (16,8 g/kg) und bei ganzkornsiliertem Mais (17,4 g/kg) (Abbildung 2). Die Verdaulichkeit des Phosphors wurde bei Maiskornsilagefütterung um 54% und um 33% bei Ganzkornsilage im Vergleich zur Trocknung signifikant verbessert. Die zwischen den beiden Silierungsformen aufgetretenen Unterschiede sind als statistisch tendenziell einzuordnen.

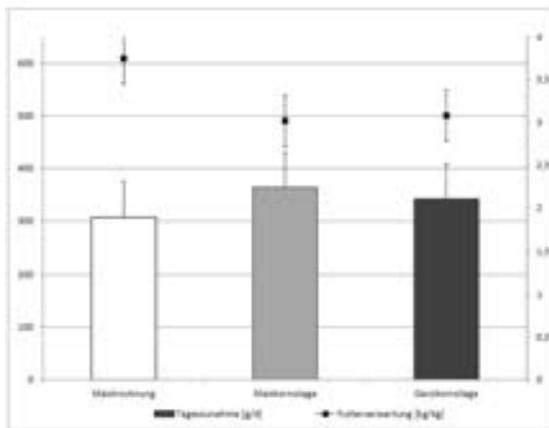


Abbildung 1: Zootechnische Leistungen

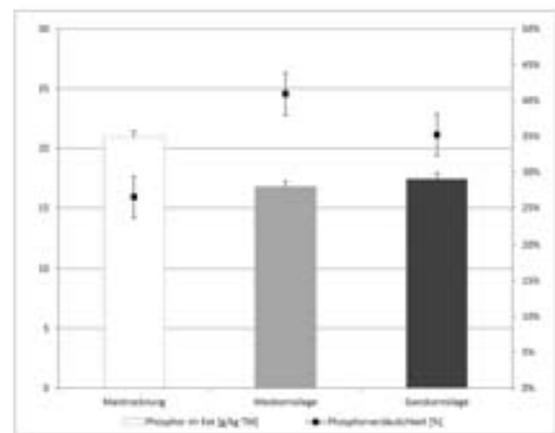


Abbildung 2: Phosphorgehalt im Kot und Phosphorverdaulichkeit

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit führte die Silierung von Mais sowohl bei vorhergehender Vermahlung, als auch bei Ganzkornsilierung zu einer Erhöhung der Phosphorverdaulichkeit beim Mastschwein.

Die ermittelte Phosphorverdaulichkeit von 27% bei getrocknetem Mais liegt im Bereich der bisher in der Literatur berichteten Werte zwischen 12% und 29% (Calvert et al., 1978; Fandrejewski et al., 1997; Spencer et al., 2000; Bohlke et al., 2005). Zusätzlich unterstützt werden die Verdaulichkeitswerte von getrocknetem Mais auch von Viveros et al. (2000) und Fandrejewski et al., (1997). Sie ermittelten einen Anteil von 78% bzw. 71% Phytatphosphor am Gesamtphosphor.

Bezüglich der Konservierungsformen konnten auch Pieper et al. (2011) eine höhere Phosphorverdaulichkeit bei Silierung von Mais, Triticale und Gerste feststellen. Bei einem Trockenmassegehalt von etwa 75% wurden die höchsten Verdaulichkeitswerte ermittelt, wohingegen ein noch niedrigerer Trockenmassegehalt (ca. 65%) keine signifikante Verbesserung im Vergleich zum trockenen Getreide bewirkte. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass mit Trockenmassegehalten von ca. 76% (MKS) und 74% (GKS) optimale Fermentationsbedingungen im vorliegenden Versuch gegeben waren.

Ein möglicher Grund für die Verbesserung der Phosphorverdaulichkeit könnte in der Beeinflussung der nativ im Maiskeimling enthaltenen Phytase liegen. Phytasen können Inositol-6-Phosphat (IP6) zu Inositol-5-Phosphat (IP5) und anorganischem Phosphat hydrolysieren. Weiters kann auch eine Spaltung zu anderen niedrigeren Phosphoestern (IP4-IP1) erfolgen (Sandberg und Andlid, 2002; Steer

und Gibson, 2002). Da die hydrolytische Enzymaktivität in der Dünndarmmucosa gegenüber Inositolphosphaten mit zunehmender Phosphorylierung sinkt, können vor allem niedere Inositolphosphate vom Monogaster verwertet werden (Hu et al., 1996). Die Phosphorabsorption erfolgt beim Monogaster vorwiegend im proximalen Dünndarm, weswegen der Phytatabbau vor diesen Absorptionsorten die Phosphorverdaulichkeit wesentlich beeinflusst (Patridge, 1978).

Die Aktivität der maiseigenen Phytase ist sehr gering und hängt vor allem vom pH-Wert und der Temperatur ab (Steinbeck, 2000). Laboure et al. (1993) stellten ein pH Optimum von 4,8 fest, wohingegen zwischen pH 6,0 und 8,0 keine signifikante Aktivität vorlag. Auch Chang (1967) berichtet von einem pH Optimum im leicht sauren Bereich, wobei unter pH 4 und über pH 8 keine Aktivität festgestellt werden konnte. Somit scheint eine Aktivierung der pflanzeigenen Phytase bei sinkendem pH-Wert im Silierprozess möglich (Kozłowska et al., 1996; Konietzny und Greiner, 2002).

Überdies sind Milchsäurebakterien in der Lage den Gehalt an Phytat-Phosphor zu verringern (Lopez et al., 2000; Skrede et al., 2007).

Durch die oben genannten Möglichkeiten des Phytatabbaus kann es zu einer vollständigen Hydrolyse von phytatgebundenem Phosphor in Futtermitteln im Zuge der Fermentation kommen (Blaabjerg et al. 2011). So berichten auch Marfo et al. (1990), Eeckhout und Depaepe (1994), Lyberg et al. (2008) und Blaabjerg et al. (2010) von der Effektivität der Fermentation auf den Phytatabbau.

Schlussfolgerungen

Allgemein kann festgehalten werden, dass aus den während der Mais Korn- und Ganzkornsilierung ablaufenden Fermentationsvorgängen eine Erhöhung der Phosphorverdaulichkeit beim Mastschwein resultiert. Folglich sind geringere Zulagen an mineralischem Phosphor erforderlich um den Bedarf der Tiere zu decken. Durch die verminderten Phosphorausscheidungen ergeben sich auch positive Wirkungen auf die Umwelt.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei der H. Wilhelm Schaumann Stiftung (Hamburg, Deutschland) für die finanzielle Unterstützung.

Literatur

- Blaabjerg, K., Jorgensen, H., Tauson, A.H., Poulsen, H.D., 2010. Heat-treatment, phytase and fermented liquid feeding affect the presence of inositol phosphates in ileal digesta and phosphorus digestibility in pigs fed a wheat and barley diet. *Animal* 4, 876-885
- Blaabjerg, K., Jorgensen, H., Tauson, A.H., Poulsen, H.D., 2011. The presence of inositol phosphates in gastric pig digesta is affected by time after feeding a nonfermented or fermented liquid wheat- and barley-based diet. *Journal of Animal Science* 89, 3153-3162
- Bohlke, R.A., Thaler, R.C., Stein, H.H., 2005. Calcium, phosphorus, and amino acid digestibility in low-phytate corn, normal corn, and soybean meal by growing pigs. *Journal of Animal Science* 83, 2396-2403
- Brüning, P., 2009. In-vitro und in-vivo-Untersuchungen zur Effizienz verschiedener mikrobieller Phytasen als Futterzusatzstoff, Freie Universität, Berlin, S. 1-142
- Calvert, C.C., Besecker, R.J., Plumlee, M.P., Cline, T.R., Forsyth, D.M., 1978. Apparent Digestibility of Phosphorus in Barley and Corn for Growing Swine. *Journal of Animal Science* 47, 420-426
- Cervantes M., G., R., Fierro, S., Barrera, M., Morales, A., Araiza, B.A., Zijlstra, R.T., Sanchez, J.E. and Sauer, W.C., 2010. Ileal digestibility of amino acids, phosphorus, phytate and energy in pigs fed sorghum-based diets supplemented with phytase and Pancreatin. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 95
- Chang, C.W., 1967. Study of Phytase and Fluoride Effects in Germinating Corn Seeds. *Cereal Chemistry* 44, 129-142

- Eeckhout, W., Depaepe, M., 1994. Total Phosphorus, Phytate-Phosphorus and Phytase Activity in Plant Feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 47, 19-29
- Fandrejewski, H., Raj, S., Weremko, D., Zebrowska, T., Han, I.K., Kim, J.H., Cho, W.T., 1997. Apparent digestibility of phosphorus in experimental feeds and the effect of commercial phytase. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 10, 665-670
- GfE, 1994. Die Bestimmung des verdaulichen Phosphors beim Schwein, In: Kirchgeßner, M. (Hrsg.), Mitteilung des Ausschusses für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, Proc. Soc. Nutr. Physiol., Weihenstephan, pp. 113-119
- GfE, 2006. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Schweinen. DLG Verlag, Frankfurt am Main
- Greiner, R., Egli, I., 2003. Determination of the activity of acidic phytate-degrading enzymes in cereal seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 847-850
- Hu, H.L., Wise, A., Henderson, C., 1996. Hydrolysis of phytate and inositol tri-, tetra-, and penta-phosphates by the intestinal mucosa of the pig. *Nutrition Research* 16, 781-787
- Konietzny, U., Greiner, R., 2002. Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases). *International Journal of Food Science and Technology* 37, 791-812
- Kozłowska, H., Honke, J., Sadowska, J., Frias, J., VidalValverde, C., 1996. Natural fermentation of lentils: Influence of time, concentration and temperature on the kinetics of hydrolysis of inositol phosphates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 71, 367-375
- Laboure, A.M., Gagnon, J., Lescure, A.M., 1993. Purification and Characterization of a Phytase (Myo-Inositol-Hexakisphosphate Phosphohydrolase) Accumulated in Maize (*Zea-Mays*) Seedlings during Germination. *Biochemical Journal* 295, 413-419
- Lopez, H.W., Ouvry, A., Bervas, E., Guy, C., Messenger, A., Demigne, C., Remesy, C., 2000. Strains of lactic acid bacteria isolated from sour doughs degrade phytic acid and improve calcium and magnesium solubility from whole wheat flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2281-2285
- Lyberg, K., Olstorpe, M., Passoth, V., Schnurer, J., Lindberg, J.E., 2008. Biochemical and microbiological properties of a cereal mix fermented with whey, wet wheat distillers' grain or water at different temperatures. *Animal Feed Science and Technology* 144, 137-148
- Marfo, E.K., Simpson, B.K., Idowu, J.S., Oke, O.L., 1990. Effect of Local Food-Processing on Phytate Levels in Cassava, Cocoyam, Yam, Maize, Sorghum, Rice, Cowpea, and Soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 1580-1585
- Naumann, C., Bassler, R., 2007. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA Verlag, Darmstadt
- Nuss, E.T., Tanumihardjo, S.A., 2010. Maize: A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9, 417-436
- Patridge, I.G., 1978. Studies on digestion and absorption in the intestines of growing pigs. *Br. J. Nutr.* 39, 527-537
- Pieper, R., Hackl, W., Korn, U., Zeyner, A., Souffrant, W.B., Pieper, B., 2011. Effect of ensiling triticale, barley and wheat grains at different moisture content and addition of *Lactobacillus plantarum* (DSMZ 8866 and 8862) on fermentation characteristics and nutrient digestibility in pigs. *Animal Feed Science and Technology* 164, 96-105
- Rodehutsord, M., 2008. Ansatzpunkte zur Schonung begrenzter Phosphorressourcen. *Archiv für Tierzucht* 51, 39-48
- Sandberg, A.S., Andlid, T., 2002. Phytogetic and microbial phytases in human nutrition. *International Journal of Food Science and Technology* 37, 823-833
- Skrede, A., Sahlstrom, S., Ahlstrom, O., Connor, K.H., Skrede, G., 2007. Effects of lactic acid fermentation and gamma irradiation of barley on antinutrient contents and nutrient digestibility in mink (*Mustela vison*) with and without dietary enzyme supplement. *Archives of Animal Nutrition* 61, 211-221
- Spencer, J.D., Allee, G.L., Sauber, T.E., 2000. Phosphorus bioavailability and digestibility of normal and genetically modified low-phytate corn for pigs. *Journal of Animal Science* 78, 675-681
- Steer, T.E., Gibson, G.R., 2002. The microbiology of phytic acid metabolism by gut bacteria and relevance for bowel cancer. *International Journal of Food Science and Technology* 37, 783-790
- Steinbeck, A., 2000. Phosphorverdaulichkeit pflanzlicher Futtermittel und in vitro-Dialysierbarkeit von Mineralstoffen., Justus Liebig Universität, Gießen
- Viveros, A., Centeno, C., Brenes, A., Canales, R., Lozano, A., 2000. Phytase and acid phosphatase activities in plant feedstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 4009-4013

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

Einfluss verschiedener Fütterungskonzepte bei unterschiedlichen Genetiken sowie Geschlecht (Eber vs. Kastrate) auf die zootecnischen Leistungsparameter bei Mastschweinen

A. Winkler¹, S. Siegel², P. Zinner², P. Lindner³ und G. Dusel¹

¹ University of Applied Science Bingen

² Agrifirm Deutschland GmbH

³ LfL Fachzentrum Schwarzenau

Einleitung

Das Ziel in der modernen Mastschweinefütterung ist es, das optimale Schlachtgewicht wie auch möglichst hohe Fleischanteile zu erzeugen, damit der höchste ökonomische Gewinn erzielt werden kann (Beuck, 2004). Die Körperzusammensetzung und somit auch die Leistungsparameter der Tiere können stark variieren. Diese Variation der Mastergebnisse ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig. Im Vordergrund stehen dabei das Geschlecht, die Genetik und das angewandte Fütterungskonzept. Diese Komponenten haben einen entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung der Tiere. Der Einfluss der Tiergenetik spiegelt sich insbesondere in dem unterschiedlichen Fleischbildungspotential wieder (Kaufmann, 2006; Glodek et al., 2004; Brandt, 2000). Studien von Glodek et al. (2004) bestätigen diesbezüglich signifikante Rassenunterschiede sowohl bei den Schlachtkörpermaßen als auch beim Anteil der Teilstücke (Schinken,- Schulter-, Bauchanteil, etc.). Gleichermaßen stellt das Geschlecht einen bedeutenden Einflussfaktor auf die Entwicklung der in der Mastschweinefütterung erzielten Leistungsparameter dar (Brandt et al., 2000; Walstra, 2000). Verschiedene Untersuchungen zeigten bereits, dass Eber im Vergleich zu Kastraten einen höheren Muskelfleischanteil aufweisen, der Fettanteil des Schlachtkörpers hingegen auf einem geringeren Niveau liegt. Auch Müller et al. (2010) konnten in ihrer Studie positive Effekte auf die zootecnischen Leistungsparameter bei Ebern im Vergleich zu Kastraten ermitteln. Desweiteren lassen sich Effekte durch Variierung des Fütterungskonzeptes (Christen, 2006; Kirchgeßner, 2008) auf die Leistungsdaten von Mastschweinen erzielen. Studien aus Haus Düsse haben gezeigt, dass mittels unterschiedlicher Fütterungskonzepte die Leistungsparameter von Ebern und kastrierten Mastschweinen beeinflusst werden können (Schulze Langenhorst et al., 2011).

In dieser Studie soll der Einfluss verschiedener Fütterungskonzepte (A und B), Genetiken (BW-Hybrid vs. DanBred) und Geschlechter (Eber vs. Kastrat) sowohl auf die zootecnischen Parameter als auch auf die Schlachtparameter und –qualität beim Mastschwein geprüft werden.

Material und Methoden

Die beiden Untersuchungen umfassen jeweils einen Leistungsversuch, welche in unterschiedlichen Zeiträumen auf der LPA des Fachzentrums für Schweinehaltung in Schwarzenau durchgeführt wurden. Dabei wurden die beiden Versuche bei der statistischen Auswertung zusammengefasst.

Im Rahmen der Leistungsversuche wurden insgesamt 192 gesunde und vitale Mastschweine unterschiedlicher Genetik (DanBred vs. BW-Hybrid) und Geschlecht (Eber vs. Kastrate) in einem Abteil mit 8 Buchten zu je 12 Tieren eingeteilt.

Dabei wurden 2 Fütterungskonzepte getestet, wobei 48 Tiere mit dem Konzept A und 48 Tiere mit Konzept B gemästet wurden. Aufgrund des variierenden Geschlechts und der unterschiedlichen Gene-

tiken ergaben sich 8 differenzierte Behandlungsgruppen. Die beiden angewandten Fütterungskonzepte unterschieden sich dabei sowohl in der Energie-, Rohfett- und Rohprotein als auch in der Aminosäurezusammensetzung. Das durchschnittliche Anfangsgewicht der Tiere lag bei 30,5 kg. Die Futterkonzepte basierten auf Getreide-Sojabasis und waren in der Zusammensetzung ähnlich gestaltet, im Energie-, Rohprotein-, Rohfettgehalt und in der Aminosäurezusammensetzung jedoch unterschiedlich (Tabelle 1). Nach einer 6-tägigen Adaptionsphase erhielten die Mastschweine ein Vormastfutter, bis ein Lebendgewicht von 50 kg erreicht wurde. Dann wurde auf ein Mittelmastfutter umgestellt, welches den Mastschweinen von 50 kg bis 85 kg Lebendgewicht verfüttert wurde. Schlussendlich erfolgte eine letzte Futterumstellung (Endmast), welche bei einem Schlachtgewicht von ca. 115 kg der Tiere endete. Sowohl das Futter als auch Wasser standen den Tieren ad libitum zur Verfügung.

Tabelle 1: Futterkonzepte und Futterzusammensetzung

	Konzept A			Konzept B		
	Vormast	Mittelmast	Endmast	Vormast	Mittelmast	Endmast
ME MJ/kg	13,3	13,1	12,8	14,0	15,2	11,9
Rohfett %	3,2	3,0	2,8	8,3	13,3	3,6
Rohprotein %	17,4	16,5	16,0	16,5	15,4	14,2
Lysin gesamt %	1,15	1,05	0,95	1,12	0,99	0,83

Bereits ab der Adaptionsphase bis zu Versuchsende wurden die Lebendgewichte (LG) tierindividuell mittels digitaler Durchlaufwaage ermittelt. Die Tageszunahmen (TZ) und die Futteraufnahmen (FA) der Mastschweine wurden wöchentlich tierindividuell mittels Transponder erfasst. Die Futterverwertung (FVW) wurde in kg Futter pro kg Zuwachs errechnet. Mit einem durchschnittlichen Lebendgewicht von 113 kg wurden die Mastschweine geschlachtet. Die Schlachtparameter und die Schlachtqualität wurden anhand der LPA- Schlachtleistungsprüfung ermittelt.

Die Rohnährstoffe im Futter wurden nach gängigen Vorschriften der VDLUFA analysiert. Die metabolische Energie wurde anhand der Analyseergebnisse errechnet.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm Statistica for Windows 2007 anhand einer Varianzanalyse (Tukey- Test) unter Berücksichtigung der Genetik, des Geschlechts und des Fütterungskonzeptes. Die korrigierten Mittelwerte (LS-Means) wurden mittels t-Test auf signifikante Unterschiede geprüft. Mittelwertunterschiede ($p < 0,05$) werden durch unterschiedliche Kleinbuchstaben (a, b) gekennzeichnet.

Ergebnisse und Diskussion

Leistungs- und Schlachtparameter

Bei mehrfaktorieller Varianzanalyse unter Berücksichtigung der 3 unabhängigen Parameter Geschlecht, Genetik und Futterkonzept konnten in den Bereichen Tageszunahme, Futteraufnahme und Futteraufwand Signifikanzen statistisch abgesichert werden.

Sowohl in der Mittel- und Endmast als auch über den gesamten Versuchszeitraum wurden von der Genetik DanBred verglichen mit der Genetik BW-Hybrid signifikant höhere tägliche Zunahmen, verursacht durch eine signifikant erhöhte Futteraufnahme, realisiert.

Es zeigte sich auch ein Geschlechter-Effekt. Aufgrund dessen, dass die Kastrate signifikant höhere Futtermengen aufnahmen im Vergleich zu den Ebern, konnten in der Vor-, Mittel- und Endmast und über die gesamte Versuchsperiode hinweg signifikant erhöhte Tageszunahmen der Kastrate ermittelt

werden. Der Futteraufwand der Eber konnte, ausgenommen während der Vormastperiode, verglichen mit der Futterverwertung der Kastrate signifikant verbessert werden.

Auch wenn sich keine signifikanten Effekte, verursacht durch die Futterkonzepte, in der Anfangs- und Mittelmast zeigten, wiesen die Versuchstiere, welche mit dem Futterkonzept A gefüttert wurden, dennoch signifikant erhöhte tägliche Zunahmen in der End- und über die gesamte Versuchsphase auf als die Tiere, welche das Futter B verabreicht bekamen. Begründet werden kann dieser Effekt mit der ebenfalls signifikant geringeren Futteraufnahme der Mastschweine des Futterkonzeptes B, welche durch den sehr hohen Rohfettgehalt und dem somit stark erhöhten Energieansatz in der Futtermischung B während der Vor- und Mittelmast verursacht wurde. Trotzdem konnte durch die Verabreichung der Futtermischung B die Futterverwertung signifikant verbessert werden.

Tabelle 2: Tageszunahme (g)

Geschlecht	Genetik	Futter	TZ 0-30		TZ 30-55		TZ 55-70		TZ Gesamt		
			\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	S	
Eber	BW-Hybrid	A	782	111	833 ^{bd}	180	929 ^{ab}	137	888 ^{ab}	90	
Eber	BW-Hybrid	B	710	160	814 ^{ab}	162	850 ^a	165	826 ^a	125	
Eber	DanBred	A	747	146	1027 ^{cd}	127	1081 ^{abd}	141	953 ^{ab}	93	
Eber	DanBred	B	713	96	900 ^{abc}	174	1026 ^{abc}	186	895 ^{ab}	102	
Kastrate	BW-Hybrid	A	754	176	936 ^c	99	988 ^{cd}	158	883 ^b	97	
Kastrate	BW-Hybrid	B	788	154	945 ^{ade}	97	941 ^{bc}	234	874 ^{ab}	96	
Kastrate	DanBred	A	804	144	1025 ^c	85	1150 ^{bde}	172	965 ^b	101	
Kastrate	DanBred	B	820	157	1032 ^{ce}	150	1076 ^{ce}	137	959 ^b	104	
p-Wert											
Geschlecht			*		***		**		*		
Genetik			0,560		***		***		***		
Futter			0,525		0,115		*		*		

(*p< 0,05; ** p<0,01; *** p<0,001)

Tabelle 3: Futteraufnahme (kg/Tag)

Geschlecht	Genetik	Futter	FA 0-30		FA 30-55		FA 55-70		FA Gesamt		
			\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	S	
Eber	BW-Hybrid	A	1,40 ^{ab}	0,16	1,84 ^{ab}	0,29	2,28 ^{ab}	0,31	2,01 ^{ab}	0,18	
Eber	BW-Hybrid	B	1,28 ^a	0,20	1,72 ^a	0,36	2,03 ^a	0,47	1,81 ^a	0,24	
Eber	DanBred	A	1,40 ^{ab}	0,24	2,27 ^{cd}	0,36	2,85 ^{abd}	0,44	2,21 ^{bc}	0,23	
Eber	DanBred	B	1,33 ^{ab}	0,16	1,94 ^{bd}	0,44	2,38 ^{bc}	0,60	1,93 ^{bd}	0,31	
Kastrate	BW-Hybrid	A	1,43 ^{ab}	0,32	2,28 ^{bd}	0,31	2,67 ^c	0,53	2,20 ^{bd}	0,27	
Kastrate	BW-Hybrid	B	1,38 ^{ac}	0,23	2,12 ^{ac}	0,37	2,33 ^{abd}	0,46	2,07 ^{ac}	0,19	
Kastrate	DanBred	A	1,55 ^b	0,23	2,52 ^{bd}	0,22	3,07 ^{cd}	0,38	2,41 ^{bd}	0,19	
Kastrate	DanBred	B	1,55 ^{bc}	0,25	2,38 ^b	0,53	2,69 ^c	0,35	2,21 ^d	0,26	
p-Wert											
Geschlecht			***		***		***		***		
Genetik			*		***		***		***		
Futter			0,088		***		***		***		

(*p< 0,05; ** p<0,01; *** p<0,001)

Tabelle 4: Futterverwertung (kg/ kg Zuwachs)

Geschlecht	Genetik	Futter	FVW 0-30		FVW 30-55		FVW 55-70		FVW Gesamt	
			\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	S
Eber	BW-Hybrid	A	1,81	0,12	2,21 ^{ab}	0,30	2,47 ^{ac}	0,25	2,27 ^{ab}	0,17
Eber	BW-Hybrid	B	1,83	0,19	2,10 ^a	0,14	2,40 ^{ac}	0,40	2,21 ^a	0,18
Eber	DanBred	A	1,89	0,14	2,17 ^{ab}	0,14	2,66 ^{ac}	0,43	2,32 ^{bc}	0,13
Eber	DanBred	B	1,88	0,16	2,11 ^b	0,20	2,31 ^b	0,39	2,15 ^c	0,19
Kastrate	BW-Hybrid	A	1,93	0,21	2,39 ^a	0,15	2,86 ^{bc}	0,34	2,55 ^{abd}	0,25
Kastrate	BW-Hybrid	B	1,78	0,23	2,21 ^a	0,40	2,48 ^a	0,38	2,40 ^a	0,26
Kastrate	DanBred	A	1,94	0,15	2,42 ^{ab}	0,22	2,71 ^{abc}	0,42	2,50 ^{ab}	0,16
Kastrate	DanBred	B	1,91	0,18	2,25 ^b	0,26	2,55 ^{bc}	0,51	2,32 ^{cd}	0,19
p-Wert										
Geschlecht			0,151		***		**		***	
Genetik			**		0,853		0,937		0,235	
Futter			0,153		***		***		***	

(*p< 0,05; ** p<0,01; *** p<0,001)

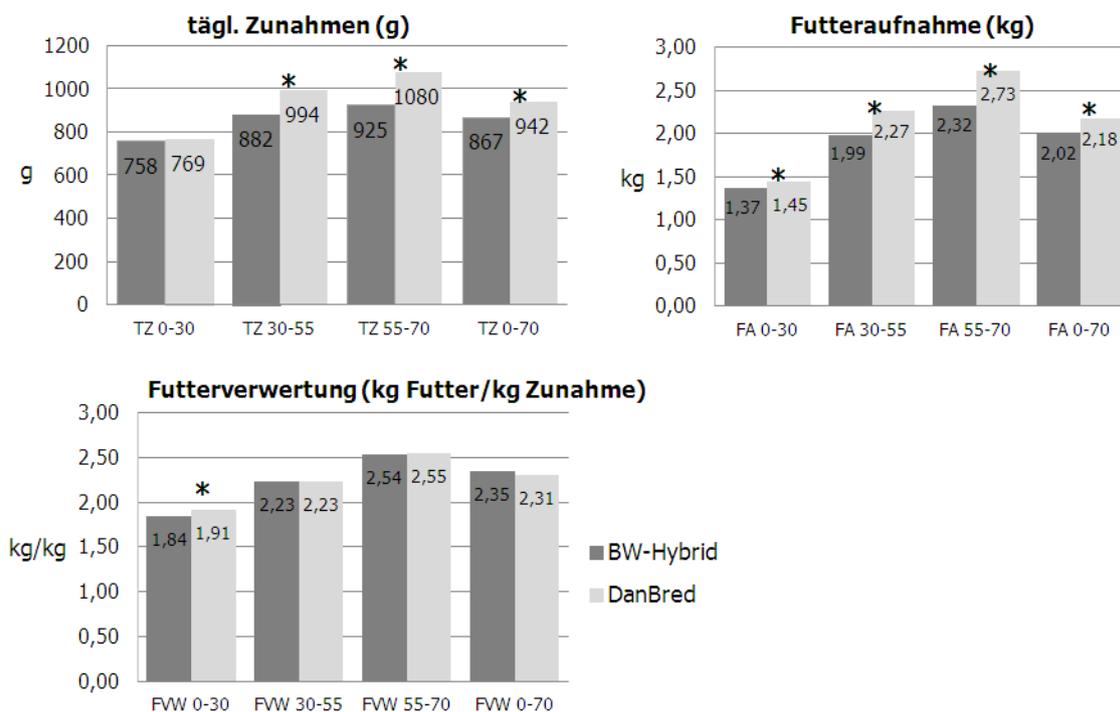


Abbildung 1: Einfluss der Genetik auf die zootechnischen Leistungsparameter

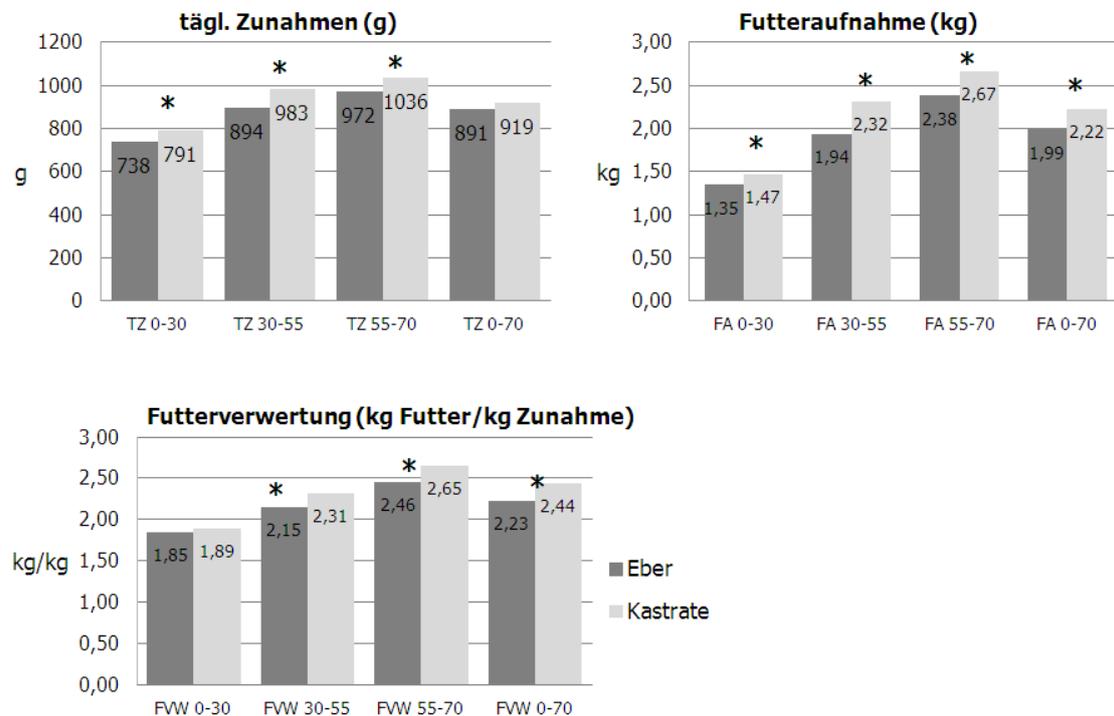


Abbildung 2: Einfluss des Geschlechts (Eber vs. Kastrate) auf die zootechnischen Leistungsparameter

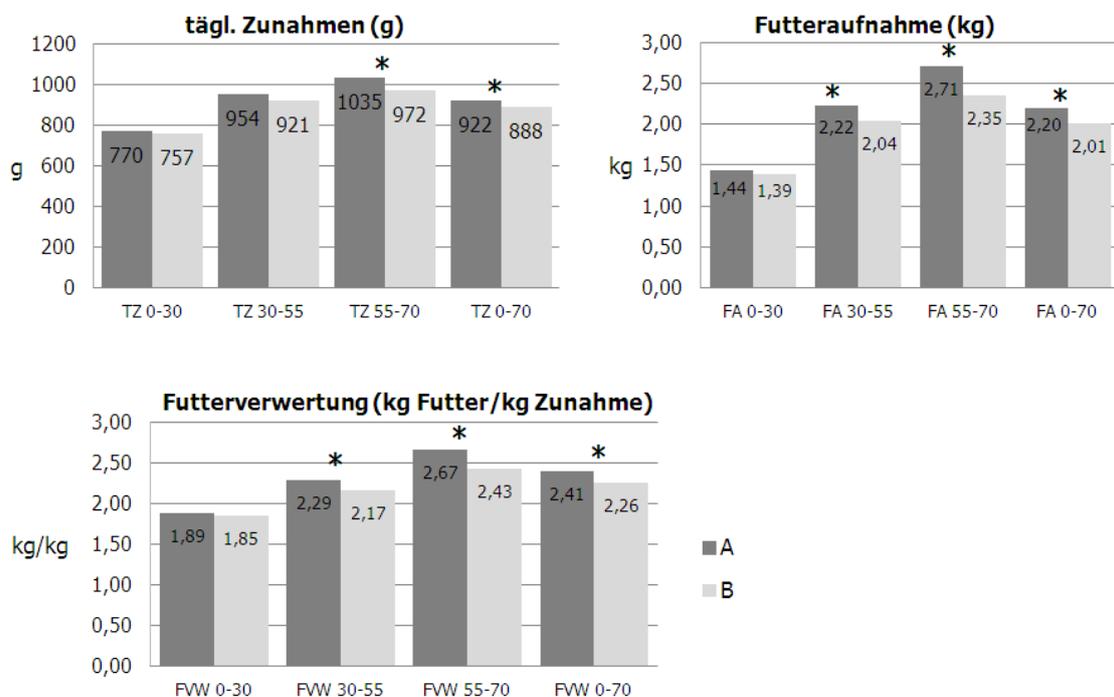


Abbildung 3: Einfluss der Futterkonzepte (A oder B) auf die zootechnischen Leistungsparameter

Schlachtparameter

Es stellten sich keine signifikanten Effekte in den Schlachtparametern Fettdicke, Muskeldicke und Muskelfleischanteil innerhalb der Genetik heraus. Aufgrund der unterschiedlichen Geschlechter wurde eine signifikant höhere Rückenfettdicke der Kastrate im Vergleich zu den Ebern ermittelt. Durch Verabreichung des Futterkonzeptes B entwickelten sich signifikant höhere Fettdicken der Schlachtkörper verglichen mit den Tieren, welche das Futterkonzept A erhielten. Signifikant höhere Muskelfleischanteile konnten mittels des Futterkonzeptes A realisiert werden.

Tabelle 5: ausgewählte Schlachtparameter

Geschlecht	Genetik	Futter	Fettdicke (mm)		Muskeldicke (mm)		MFA (%)	
			\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
Eber	BW-Hybrid	A	12,4 ^a	1,76	67,2	5,60	60,7 ^a	2,20
Eber	BW-Hybrid	B	13,5 ^{ab}	1,83	66,9	4,85	59,8 ^{ab}	1,48
Eber	DanBred	A	12,9 ^{ab}	2,20	66,0	6,32	60,1 ^{ab}	2,02
Eber	DanBred	B	15,3 ^b	2,49	66,2	6,23	58,2 ^b	2,56
Kastrate	BW-Hybrid	A	13,5 ^{ab}	2,10	67,2	4,33	59,8 ^{ab}	1,80
Kastrate	BW-Hybrid	B	15,2 ^b	2,27	67,9	5,14	58,5 ^{ab}	1,86
Kastrate	DanBred	A	14,2 ^{ab}	2,03	68,5	3,75	59,5 ^{ab}	1,78
Kastrate	DanBred	B	14,7 ^{ab}	1,77	64,8	5,14	58,4 ^b	2,08
p-Wert								
Geschlecht			*		0,610		0,092	
Genetik			0,137		0,363		0,077	
Futter			***		0,463		***	

(*p< 0,05; ** p<0,01; *** p<0,001)

Fazit

Ziel des Leistungsversuches war es, nach Fütterung getreidereicher Mischungen, den Effekt unterschiedlicher Fütterungskonzepte (A und B), Genetiken (BW-Hybrid vs. DanBred) und Geschlechter (Eber vs. Kastrat) sowohl auf die zootechnischen Leistungsparameter als auch auf die Schlachtparameter beim Mastschwein zu ermitteln.

Es zeigt sich ein Geschlechter-Effekt. Sowohl die tägliche Futtermengeaufnahme als auch die Futterverwertung der Eber konnten verglichen mit den Kastraten über den gesamten Versuchszeitraum signifikant verbessert werden.

Über die unterschiedlich eingesetzten Genetiken zeigt sich bei den Tageszunahmen und auch den täglichen Futtermengeaufnahmen die DanBred-Genetik signifikant höher. Die Futterverwertung beider Genetiken hingegen lag auf ähnlich gutem Niveau.

Das energiereichere Futter-Konzept B konnte trotz signifikant niedrigeren Tageszunahmen auf Grund der deutlich niedrigeren Futtermengeaufnahme die Futterverwertung signifikant verbessern.

Signifikante Effekte auf die Schlachtparameter und Schlachtqualität konnten durch die unterschiedlichen Futterkonzepte und durch den Einsatz von Ebern und Kastraten nachgewiesen werden. Somit wurde das Fettmaß (in mm) der Kastrate verglichen mit den Ebern signifikant erhöht. Desweiteren trat eine signifikante Verbesserung des MFA (in %) durch Anwendung des Futter Konzeptes A auf.

Literatur

- Beuck, J. (2004): Wie Westfleisch Schweine bezahlt, Westfleisch - AutoFOM Spezial, Nov. 2004, 3-4
- Brandt, H. (2000): Deutsche und dänische Vaterlinien getestet (Teil II), SUS 48, 3, 46-48
- Brandt, H., Wörner, R., Henne, H. (2000): Analyse der Nachkommenprüfung von Besamungsebern in Top- Genetik Programmen, Züchtungskunde 72, 59-68
- Christen, H. (2006): Fette Bäuche beim schwein- Wer ist schuld?, UFA- Revue 02/2006, 42-43
- Glodek, P., Kratz, R., Schulz, E., Flachowsky, G. (2004): Der Einfluss verschiedener Vatterassen in praxisüblichen Schweinekreuzungen auf deren Ansatzleistung, Schlachtkörperzusammensetzung sowie Fleisch- und Fettbeschaffenheit, Arch. Tierz. 47, 59-74
- Kaufmann, D. (2006): Welche Eberasse? UFA- Revue 12/ 2006, 2-3
- Kirchgeßner, M. (2008): Tierernährung, DLG- Verlags- GmbH Frankfurt
- Müller, S., Otto, M, Reimann, G., Weiler, U. (2010): Eber auf Herz und Nieren geprüft, Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft. Zeitungsartikel in der DLZ primus Schwein, Dezember 2010
- Schulze Langenhorst, C., Bütfering, L., Adam, F. (2011): Mastabschnitte und bedarfsgerechte Aminosäurenversorgung in der Jungebermast, Landwirtschaftskammer Nordrhein- Westfalen, 2011
- Walstra, P. (2000): Pig carcass classification- History and main problems, Workshop Lelystad, The Netherland, Statistical Methods in pig classification in the EU, 22-23 May 2000

Autorenanschrift

M. Sc. Anne Winkler
Abteilung: Tierernährung
Fachhochschule Bingen, Fachbereich 1- Life Science and Engineering
Berlinstrasse 109, 55411 Bingen am Rhein
E-Mail: winkleran@fh-bingen.de

Ebermast – Überprüfung der Bedarfsempfehlung und Reduzierung des Skatolgehaltes durch Inulinzulagen

Wolfgang Preißinger¹, Karl Schedle², Hermann Lindermayer¹ und Günther Propstmeier¹

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub/Schwarzenau, Deutschland

² Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien, Österreich

Einleitung

Die Kastration männlicher Ferkel ist aufgrund der spezifischen Geruchsstoffe im Eberfleisch (Leitsubstanzen: Androstenon und Skatol) gängige Praxis. Die derzeitige Diskussion (Düsseldorfer Erklärung, Novellierung des Tierschutzrechts ab 2017 etc.) deutet daraufhin, dass möglicherweise die Mast von Kastraten durch die Jungebermast abgelöst wird. Aktuelle Ergebnisse zur Mast von Jungebern mit üblichen Mastendgewichten und Genetiken liegen derzeit in Deutschland noch nicht ausreichend vor, um gesicherte Empfehlungen für die Fütterung ableiten zu können. Aus bisherigen Untersuchungen und den Erfahrungen der Länder mit Ebermast (DK, GB) lässt sich erkennen, dass Eber im Vergleich zu Kastraten ein höheres Proteinansatzvermögen, eine geringere Fettbildung und damit eine bessere Futtermittelverwertung aufweisen. Der Fleischanteil ist stark erhöht (um bis zu 5 Prozentpunkte) und der Futteraufwand stark reduziert (um bis zu 0,4 Einheiten). Bei den Tageszunahmen sind die Ergebnisse bisher sehr uneinheitlich, so dass zunächst von keiner Veränderung ausgegangen wird. Das Futteraufnahmevermögen ist bedeutend geringer (um ca. 0,2-0,3 kg/Tag) als das von Kastraten oder Sauen. Dies hat Konsequenzen für die Energie- und Proteinversorgung sowie die Konzeption der Futtermittelration. Solange keine abweichenden, aktuellen Ergebnisse vorliegen, kann sich die Eberfütterung an den vorhandenen Empfehlungen für Mastschweine mit sehr hohem Proteinansatz orientieren. Dabei werden durchschnittliche Zunahmen von 850 g pro Tag sowie ca. 60 % MFA unterstellt. Dem für die bedarfsgerechte Fütterung wichtigen höheren Muskelfleischanteil der nicht kastrierten Tiere wird damit voll Rechnung getragen. Bei gleichen Tageszunahmen aber mehr Fleischansatz ergibt sich für die Eber die Notwendigkeit einer höheren Aminosäurenversorgung bzw. eines engeren Aminosäure-/Energieverhältnisses in der Ration. Neuere Versuchsergebnisse zeigen auch bei Jungebern schnellwachsender Herkünfte höhere Wachstumskapazitäten allerdings verbunden mit niedrigen Muskelfleischanteilen (DLG, 2010).

Ein besonderer Aspekt der Mast männlicher nicht kastrierter Schweine ist der typische und unerwünschte Geschlechtsgeruch im Schlachtkörper, der nur durch gemeinsame Maßnahmen von Zucht, Fütterung und Haltung minimiert werden kann. Im Gegensatz zu Androstenon, dessen Gehalt im Tierkörper hauptsächlich durch genetische Einflüsse und Alter beeinflusst wird, konnte in zahlreichen Untersuchungen gezeigt werden, dass sich der Gehalt an Skatol im Schlachtkörper durch Fütterungsmaßnahmen reduzieren lässt (Lundström et al., 1988; Claus et al., 1994; Claus et al., 2003; Rideout et al., 2004; Zamaratskaia et al., 2005; Lösel, 2006; Zamaratskaia et al., 2006; Hansen et al., 2006; Hansen et al., 2007; Chen et al., 2007, Byrne et al. 2008, Pauly et al., 2008). Zamaratskaia und Squires (2009) fassen die möglichen Fütterungsmaßnahmen zusammen und bewerten diese. Während klassische Rohfaserträger wie Trockenschnitzel oder Sojabohnenschalen keinen wesentlichen Einfluss auf den Skatolgehalt im Fett hatten, führten Inulin, rohe Kartoffelstärke oder blaue Lupinen in Abhän-

gigkeit von der Höhe der Zulage z. T. zu erheblichen Reduktionen. Neuere Versuche mit roher Kartoffelstärke zeigen, dass Anteile von über 20 % in der Ration bei rel. kurzer Anwendungsdauer (1 bis 3 Wochen vor der Schlachtung) zu niedrigeren Skatolgehalten im Fett bzw. im Fett und Plasma führen (Claus et al., 2003; Lösel, 2006; Zamaratskaia et al., 2006, Pauly et al., 2008). Demgegenüber zeigten 10 % rohe Kartoffelstärke trotz rel. langer Fütterungsdauer (4 bis 6 Wochen vor der Schlachtung) keine Wirkung (Aluwé et al., 2009). Auch die Zulage von Inulin verminderte bei niedriger Dosierung (3,3 % in der Ration) und rel. langer Anwendungsdauer von 4 bis 6 Wochen den Skatolgehalt nicht (Aluwé et al., 2009). Dagegen führten 14 % Inulin in der Ration über einen Einsatzzeitraum von 6 Wochen zu einer Reduktion in Plasma und Fett (Byrne et al., 2007).

In der vorliegenden Arbeit sollen deshalb zum einen die Bedarfsempfehlungen für die Ebermast (DLG, 2010) mit denen für Kastraten und weibliche Tiere verglichen werden, zum anderen sollte Inulin, das nachgewiesenermaßen eine skatolreduzierende Wirkung aufweist, in unterschiedlicher Zulagenhöhe geprüft werden. Ausgehend von der zur Verfügung stehenden Literatur sollten 3 und 10 % Inulin der Ration 4 bis 6 Wochen vor der geplanten Schlachtung eingemischt werden.

Material und Methoden

Der Fütterungsversuch wurde am Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum Schwarzenau durchgeführt. Für den Versuch wurden 88 männliche nicht kastrierte Ferkel der Rasse Pi x (DL x DE) nach Lebendmasse, Abstammung und Geschlecht ausgewählt und gleichmäßig auf vier Gruppen (Tabelle 1) aufgeteilt.

Tabelle 1: Behandlungsgruppen

Futtergruppen	Behandlungen
Kontrolle I – Standardfutter 850 g	Ebermast nach DLG-Empfehlung (2010) für Mastschweine mit 850 g TZU – AM 11 g Lys/MM 9 g Lys/EM 7,5 g Lys
Testgruppe II – Ebermastfutter 850 g	Ebermast nach DLG-Empfehlung (2010) für Jungeber mit 850 g TZU - AM 12 g Lys/MM 9,5 g Lys/EM 8,5 g Lys
Testgruppe III – Ebermastfutter + 3 % Inulin + 3 % Diamol ¹⁾	Ebermast nach DLG-Empfehlung (2010) für Jungeber mit 850 g TZU - AM 12 g Lys/MM 9,5 g Lys/EM 8,5 g Lys + 3 % Inulin 6 Wochen vor der Schlachtung
Testgruppe IV – Ebermastfutter + 10 % Inulin + 10 % Diamol ¹⁾	Ebermast nach DLG-Empfehlung (2010) für Jungeber mit 850 g TZU - AM 12 g Lys/MM 9,5 g Lys/EM 8,5 g Lys + 10 % Inulin 6 Wochen vor der Schlachtung

¹⁾ Diamol als Trägerstoff und zur Wasserbindung

Die Jungeber wurden in 8 Buchten zu je 11 Tieren auf Betonspalten ohne Einstreu gehalten. Sie waren zu Versuchsbeginn im Durchschnitt 69 Tage alt und wogen 30 kg. Pro Testgruppe wurden zwei Buchten gemischtgeschlechtlich aufgestellt. Die Vorlage des Mischfutters erfolgte mehlformig und ad libitum über Abrufstationen mit täglicher Futtermengen- und Tiergewichtserfassung. Darüber hinaus wurden die Tiere beim Ein- und Ausstallen sowie bei jedem Futterwechsel mit einer Viehwaage gewogen. Beim Erreichen von ca. 115 kg Lebendmasse wurden die Tiere nach den Vorgaben der Mastleistungsprüfung an 2 Terminen im Versuchsschlachthaus Schwarzenau geschlachtet. Am Schlachtband wurde in Anlehnung an die Ausschmelzprobe (Bundesanzeiger, 2002) der Rückenspeck mit einem Heißluftföhn erhitzt und Riechproben von einer weiblichen und männlichen Testperson nach folgendem Schlüssel durchgeführt: 0=kein Geruch, 1=unsichere Wahrnehmung, 2=Ebergeruch. Die Skatole wurden quantitativ mittels "High-performance reversed-phase liquid chromatography" (Waters 2695) nach der Methode von Hansen-Möller (1994) analysiert.

Die Komponenten wurden aus Karreeauflagenfett mit Methanol durch Homogenisation (Ultraschallbad) extrahiert. Die restlichen Fette wurden durch kühlen im Eisbad und nachfolgende Zentrifugation entfernt.

Sämtliche 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. Zur Bestimmung der Preiswürdigkeiten wurden aktuelle Zukaufspreise zugrunde gelegt.

Ergebnisse und Diskussion

Die hofeigenen Rationen enthielten Weizen, Gerste und Sojaextraktionsschrot (48 % Rohprotein) als Basisfutter (Tabelle 2). Dazu kamen für alle Gruppen identische, aminosäurereiche Anfangs- und Endmastmineralfutter. Zur Steigerung der Aminosäuregehalte von der Kontrolle auf die Testgruppen wurde der Sojaanteil um ca. 3 %-Punkte erhöht und ein Energieausgleich mit Verschiebungen bei den Getreideanteilen vorgenommen. Der Mineralfutteranteil wurde innerhalb der Fütterungsphasen durchgängig beibehalten. Das Einmischen des sehr hygroskopischen Inulins war extrem problematisch. Innerhalb von Minuten nach Öffnen des Gebindes war das Produkt bei normaler Zimmerluftfeuchte verklumpt bis „ausgehärtet“, ein Einmischen ins Futter war somit nicht möglich. Erst die Zugabe des Träger- und Fließhilfsstoffes „Diamol“ auf Kieselgurbasis zu Inulin im Verhältnis 1:1 führte zu einem befriedigenden Mischergebnis. Auf diese technische Komplikation beim Mischen sowie auf einen sehr harten Kot bei den Gruppen mit Inulin wird ausdrücklich hingewiesen.

Tabelle 2: Versuchsrationen und analysierte Nährstoffgehalte

Futtertyp		Kontrolle I			Testgruppe II			Testgruppe III			Testgruppe IV		
		Standard 850 g - 11/9/7,5 g Lys			Ebermast 850 g - 12/9,5/8,5 g Lys			Ebermast 850 g - 12/9,5/8,5 g Lys			Ebermast 850 g - 12/9,5/8,5 g Lys		
		AM ²⁾	MM	EM	AM	MM	EM	AM	MM	EM	AM	MM	EM
Gerste	%	25	32,5	35	25,5	31	32	25,5	31	26	25,5	31	12
Weizen	%	55	50	52	50	50	52	50	50	52	50	50	52
Soja 48	%	17	15	11	21,5	16,5	14	21,5	16,5	14	21,5	16,5	14
Mifu (10/2/3) ¹⁾	%	3			3			3			3		
Mifu (7/1,5/1) ¹⁾	%		2,5	2		2,5	2		2,5	2		2,5	2
Inulin/Diamol	%									3/3			10/10
Analysierte Inhaltswerte (Basis 88 % T)													
T	g	877	878	878	877	879	879	877	879	865	877	879	875
ME ²⁾	MJ	13,49	13,59	13,69	13,66	13,77	13,87	13,66	13,77	13,22	13,66	13,77	11,88
Rohprotein	g	186	183	169	203	193	180	203	193	172	203	193	152
Lysin	g	11,3	9,2	7,9	12,5	9,6	8,2	12,5	9,6	7,5	12,5	9,6	6,8
Methionin	g	3,3	3,1	2,7	4,2	3,1	2,8	4,2	3,1	2,5	4,2	3,1	2,2
Threonin	g	7,4	6,2	5,6	7,8	6,4	5,9	7,8	6,4	5,2	7,8	6,4	5,0

¹⁾ (% - Lys/Met/Thr) ²⁾ ME aus Verdauungsversuchen mit 4 Tieren pro Futter,

²⁾ AM-Anfangsmast/MM-Mittelmast/EM-Endmast,

³⁾ Preise €/dt: Getreide 20, Soja 48 38, Mifu AM 75, Mifu MM/EM 65, Diamol 50, Inulin 15;

Die Futteranalysenwerte (4 Analysen pro Futtertyp, Tabelle 2) sowie die Energiegehalte mit den ermittelten Verdaulichkeiten gingen in die geplante Richtung und sind in sich schlüssig. Die Werte im Standardfutter (Kontrolle) mit 11,3/9,2/7,9 g Lysin pro kg AM-/MM-/EM-Futter und etwas weniger MJ ME/kg heben sich in der gewünschten Größenordnung vom aufgewerteten Ebermastfutter mit 12,5/9,6/8,2 g Lysin und etwas mehr Energie ab. Im Schnitt enthielt das Eberfutter 0,6 g/kg Lysin

mehr, was zu einer Kostensteigerung von 0,6 €/dt Mischfutter führte. Die Phasenfütterung mit entsprechenden Rohprotein- und P-Abstufungen im Mastverlauf ist geglückt. In der Testgruppe 2 mit 3 % Inulin- plus 3 % Diamolzulage zum Endmastfutter in den letzten 6 Mastwochen im Austausch gegen Gerste ergab sich ein Verdünnungseffekt. Bei 10 % Inulin plus 10 % Diamol war der Verdünnungseffekt sehr deutlich, es fehlten 2 MJ ME/kg und über 15 % der Aminosäuren. Mit dem Kieselgurträger hatte sich der Rohascheanteil stark erhöht.

In Tabelle 3 sind die Mastleistungsparameter sowie die Futterkosten dargestellt. Von insgesamt 88 aufgestellten Tieren wurden 6 vorzeitig aus dem Versuch genommen und nicht bewertet (Verletzungen aufgrund von gegenseitigem Bespringen, Raufereien, Beißereien etc.).

Tabelle 3: Tägliche Zunahmen, Futtermittelverzehr, Futter- und Energieaufwand (LSQ), Futterkosten

		Kontrolle I	Testgruppe II	Testgruppe III	Testgruppe IV	Sign. p<0,05
Tierzahl/Ausfälle	n	22/2	22/2	22/0	22/2	-
Masttage	n	118	119	119	118	-
Lebendmasse						
Anfang	kg	30,0	29,7	29,7	30,1	0,973
Mittelmast	kg	68,1	68,6	69,0	71,7	0,251
Endmast	kg	90,8	89,9	92,9	94,4	0,200
Ende	kg	113,3	113,2	119,0	117,6	0,099
Zuwachs	kg	83,4	83,5	89,3	87,5	0,089
Zunahmen/Tag						
Anfangsmast	g	680	695	701	743	0,099
Mittelmast	g	813	758	855	809	0,207
Endmast	g	684	672	747	679	0,412
Gesamt	g	708	701	751	740	0,097
Futter-/Energieverzehr/Tag						
Anfangsmast	kg/MJ	1,5/20,3	1,4/19,4	1,5/20,2	1,5/21,0	0,924
Mittelmast	kg/MJ	2,0/26,5	2,0/27,4	2,1/28,1	2,1/28,8	0,836
Endmast	kg/MJ	2,2/29,5	2,2/30,8	2,4/31,2	2,4/28,2	0,568
gesamt	kg/MJ	1,8/24,4	1,8/24,6	1,9/25,3	1,9/25,0	0,957
Futter-/Energieaufwand (kg Futter/kg Zuwachs bzw. MJ ME/kg Zuwachs)						
Anfangsmast	kg/MJ	2,2/29,9	2,1/27,9	2,1/28,9	2,1/28,3	0,801
Mittelmast	kg/MJ	2,4/32,6	2,7/36,6	2,4/32,9	2,6/35,5	0,779
Endmast	kg/MJ	3,3/45,2	3,3/45,9	3,2/41,8	3,5/41,6	0,763
gesamt	kg/MJ	2,56/34,7	2,57/35,1	2,51/33,7	2,59/33,8	0,548
Futtermittelverbrauch						
gesamt	kg	212,7	214,6	223,8	227,1	-
Futterkosten						
gesamt	€	50,83	52,31	54,95	56,72	-
pro kg Zuwachs	€	0,61	0,63	0,62	0,65	-
N-Ausscheidung						
pro Eber	kg	4,02	4,51	4,59	4,66	-
pro kg Zuwachs	g	48	54	51	53	-
Sojaverbrauch						
pro Eber	kg	30,6	37,5	39,1	39,7	-
pro kg Zuwachs	kg	0,37	0,45	0,44	0,45	-

Bei gleichem Startgewicht von 30 kg LM erreichten die Eber nach einheitlicher Versuchsdauer (118,5 Tage) ein durchschnittliches Endgewicht von 116 kg LM. Im Schnitt wurden 725 g tägliche Zunahmen erreicht. Bei den täglichen Zunahmen schnitt die Gruppe mit 3 % Inulin am besten ab. In dieser Gruppe waren auch die wenigsten Rängeleien anzutreffen (keine Tieraussfälle). Die Futter- bzw. auch der Energieaufnahmen liefen im Einklang mit den jeweiligen Leistungen. Die durchschnittlich 1,8 kg bzw. 25 MJ ME pro Jungeber und Tag sind typisch für Bayernhybrid. Insgesamt brauchten die Eber über alle Gruppen 2,6 kg Futter pro kg Zuwachs oder knapp 35 MJ ME. Die Futterkosten sprechen für die Kontrolltiere mit der Standardmastration. Für die Aminosäureerhöhung (Gruppe II) musste wegen der Leistungsgleichheit 1,5 € pro Masteber mehr ausgegeben werden. In der Gruppe mit 3 % Inulin fielen 4,12 € zusätzliche Futterkosten gegenüber der Kontrolle an, davon allein 2,64 € für die Skatolbegrenzung. Die Variante mit 10 % Inulin verursacht 5,89 € Mehrfutterkosten mit anteilig 4,41 € für Inulin und Diamol. Nicht berücksichtigt sind die zusätzlichen Aufwendungen beim Futterlagern, -mischen und evtl. in der Fütterungstechnik. Negativ wirkt auf alle Fälle bei den „Ebermastrationen“ der erhöhte Stickstoffein- bzw. austrag (+ 15 %) – für das Tier und für die Umwelt.

Die erreichten Schlachtleistungsergebnisse (Tabelle 4) sind für Eber typisch – über 60 % Muskelfleisch und Bauchfleischanteil. Betrachtet man nur die Testgruppen I und II, dann liegen hier gleiche Schlachtgewichte (warm) und gleiche Ausschlachtungen vor. Die objektiv feststellbare Fleischfläche – das Kotelett- war bei der Testgruppe II um 0,9 cm² größer als bei der Kontrolle. Den Unterschied machte der Fettanteil aus. Die rohproteinärmer gefütterten Kontrolltiere hatten signifikant mehr Fett am Kotelett (16 %) und deswegen auch das deutlich ungünstigere Fleisch-/Fettverhältnis. Diese wird auch durch das Speck- und Fleischmaß aus der Geräteklassifizierung bestätigt. In den Testgruppen mit Inulin sorgte die Verdünnung von Energie und Aminosäuren im Futter nicht für weniger Fettbildung. Die Fleischfläche war im Vergleich zur Kontrolle höher. Dazu passt nicht der berechnete Muskelfleischanteil nach Hennessy und auch im Bauch – hier waren die Tiere der Testgruppe II signifikant überlegen. Es darf aber bezweifelt werden, ob die für Kastraten und weibliche Tiere ermittelten Schätzwerte für Eber überhaupt verwendet werden sollten und genügend Aussagekraft bezüglich des Marktwertes haben.

Tabelle 4: Schlachtleistungen nach LPA-Richtlinien (LSQ)

		Kontrolle I	Testgruppe II	Testgruppe III	Testgruppe IV	Sign. p<0,05
Tierzahl	n	20	20	22	20	-
Schlachtgewicht	kg	90,2	90,1	94,9	90,7	0,192
Ausschlachtung	%	80,3	80,4	80,0	77,1	0,096
Fleischfläche	cm ²	54,0	54,9	55,5	55,6	0,635
Fettfläche	cm ²	12,8 ^a	11,0 ^b	13,6 ^a	12,7 ^a	0,016
Fleisch/Fett	1:	0,24 ^a	0,20 ^b	0,25 ^a	0,23 ^a	0,009
Speckmaß	mm	12 ^a	11 ^b	12 ^a	12 ^a	0,050
Fleischmaß	mm	65	68	68	66	0,416
MFA	%	61,6 ^a	64,3 ^b	61,6 ^a	62,6 ^a	0,045
Fleisch i. Bauch	%	61,2 ^a	63,7 ^b	61,3 ^a	62,7 ^a	0,039

Die subjektive Bewertung des Ebergeruches am Schlachtband ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Geruchswahrnehmung (Bewertungsschema 0=kein Geruch, 1=unsicher, 2=Geruch)

Geruchsnoten (0/1/2 -keine/wenig/starke Abweichung)		Kontrolle I	Testgruppe II	Testgruppe III	Testgruppe IV
Tierzahl	n	20	20	22	20
Testperson weiblich	0,1,2	1,50	1,00	1,18	1,00
männlich	0,1,2	1,40	1,05	0,95	0,95

Das Standardfutter mit den niedrigen Lysingehalten in der Ration zeigte die intensivste (1,45 Punkte), das Ebermastfutter mit 10 % Inulin die geringste (0,98 Punkte) Wahrnehmung von Ebergeruch. Die subjektiven Geruchswahrnehmungen wurden auch durch die Analyse der Skatolgehalte im Karreeauf-lagenfett untermauert (Tabelle 6). Einen ähnlich hohen Wert wie in den Gruppen ohne Inulinzugabe (90,3 ng/g Fett) ermittelte Müller (2010) ebenfalls an Ebern. Für Kastraten werden mittlere Skatolge-halte von ca. 30,0 ng/kg Fett angeführt (Banon 2003).

Einen deutlicheren Einfluss auf die Geruchswahrnehmung hatte das Alter der Tiere. Zum 2. Schlacht-termin gaben die Beurteiler mit durchschnittlich 1,45 gegenüber 0,8 Punkten eine intensivere Ge-ruchswahrnehmung an.

Tabelle 6: Skatolgehalte im Auflagenfett vom Karreefleisch in ng/g

		Kontrolle I	Testgruppe II	Testgruppe III	Testgruppe IV
Tierzahl	n	21	19	22	19
Skatolgehalt, ng/g Fett		106 ^a	82 ^{ab}	47 ^{bc}	16 ^c

Schlussfolgerungen

In dem vorliegenden Einzeltierfütterungsversuch mit Jungebern waren die Mastleistungen in den vier Behandlungsgruppen mit im Schnitt 725 g tägliche Zunahmen, nur 1,85 kg Futtermittelverzehr pro Tag, 2,6 kg Futteraufwand bzw. 34,5 MJ ME pro 1 kg Zuwachs nicht überzeugend. Die Futterkosten belie-fen sich auf 0,61 € (Standardfutter), 0,63 € (Ebermastfutter), 0,62 € Ebermastfutter mit 3 % Inulin) und 0,65 € (Ebermastfutter mit 10 % Inulin) pro kg Zuwachs. Der Versuchsablauf war von „Rauferei-en“, Rankämpfen und gegenseitigen Bespringen in fast allen Buchten gestört. Die Unterschiede in der Mastleistung zwischen den Behandlungen konnten statistisch nicht abgesichert werden. Eine Not-wendigkeit zur Lysinerrhöhung um ca. 1 g/kg von einer schon gut ausgestatteten Standardration (11,3/9,2/7,9 g/kg) auf eine Ebermastration mit 12,5/9,6/8,2 g/kg Lysin erbrachte keinen gesicherten Einfluss auf die Ansatzleistungen. Dagegen wurden die Futterkosten um ca. 1,5 € pro Tier und der N-Austrag um 12 % erhöht. Die Zugabe von 3 % Inulin (plus 3 % Diamol) bzw. von 10 % Inulin (plus 10 % Diamol) zur Skatolreduzierung bzw. Geruchsminderung führte zu Nährstoffverdünnungen in der Ration. Die inulinbedingten Mehrkosten machten pro Eber 2,6 €- in der niedrigen und 4,4 € in der hohen Dosierung aus. Die Jungeber erreichten über 60 % Muskelfleischanteil sowohl im gesamten Schlachtkörper als auch im Bauch. Die erhöhte Lysinzufuhr hatte keine Steigerung der Fleischparame-ter Fleischfläche und Fleischmaß zur Folge. Inulin hatte keinen Einfluss auf den Fleisch- und Fettan-satz. Durch Inulin ließ sich der Skatolgehalt im Fett in Abhängigkeit von der Zulagenhöhe deutlich reduzieren.

Literatur

- Aluwé M., S. Millet, G., F.A. Tuytens, K. Verheyden, H. F. Brabander, D.L. Brabander, M.J. Oeckel (2009): Absence of an effect of dietary fibre or clinoptilolite on boar taint in entire male pigs fed practical diets. *Meat Science* 82:346-352
- Banon S., E. Costa, M.D. Gil, M.D. Garrido (2003): A comparative study of boar taint in cooked and dry- cured meat. *Meat Science*, 62, 381-388
- Bundesanzeiger (2002): Allgemeine Verwaltungsvorschrift über die Durchführung der amtlichen Überwachung nach dem Fleischhygienegesetz und dem Geflügelfleischhygienegesetz, 54 Nr. 44 a
- Byrne D.V., S.M. Thamsborg, L.L.Hansen (2008): A sensory description of boar taint and the effects of crude and dried chicory roots (*Cichorium intybus* L.) and inulin feeding in male and female pork. *Meat Sci.* 79, 252-269
- Chen, G., G. Zamaratskaia, H.K. Andersson, K. Lundström (2007): Effects of raw potato starch and live weight on fat and plasma skatole, indole and androstenone levels measured by different methods in entire male pigs. *Food Chemistry* 101:439-448
- Claus, R, D. Lösel, M. Lacorn, J. Mentschel, H. Schenkel (2003): Effects of butyrate on apoptosis in the pig colon and its consequences for skatole formation and tissue accumulation. *J Anim. Sci* 2003, 81, 239-248
- Claus, R., U. Weiler, A. Herzog (1994): Physiological aspects of androstenone and skatole formation in the boar – a review with experimental data. *Meat Science* 38:289-305
- DLG (2010): DLG-Kompakt Erfolgreiche Mastschweinefütterung, Herausgeber DLG e.V., DLG-Verlag, Verlag Frankfurt a. Main
- Freisfeld, G. (2011): Ebermasterfahrung. Vortrag Fachtagung für Ferkelerzeuger und Schweinemäster Schwarzenau, 16.03.2011
- Hansen, L.L., H. Mejer, S.M. Thamsborg, D.V. Byrne, A. Roepstorff, A.H. Karlsson, J. Hansen-Møller, M.T. Jensen, M. Tuomola (2006): Influence of chicory roots (*Cichorium intybus* L) on boar taint in entire male and female pigs. *Animal Science* 82:359-368
- Hansen, L.L.; J. A. Jensen; P. Henckel; J. Hansen-Møller; D. V. Byrne, K. Syriopoulos (2007) Pork quality related to the diet content of fermentable fibre-rich feedstuffs (chicory and lupine) with special emphasis on the effect on boar taint and meat quality. 23rd NJF congress 2007, Trends and Perspectives in Agriculture, Copenhagen, June 26-29, 2007
- Hansen-Moller, J. (1994) Rapid high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of androstenone, skatole and indole in back fat from pigs. *Journal of Chromatography B: Biomedical Applications* 661:219-230. Lösel, D. (2006): Versuche zur Verbesserung der sensorischen Fleischqualität beim Schwein durch Hemmung der Skatolbildung: Diss. Universität Hohenheim
- Müller (2010): Ebermast – was erwartet den Schweineproduzenten? *Schweinezucht aktuell*, 37-2010, 42-44
- Pauly, C., P. Spring, J.V. O'Doherty, S. Ampuero Kragten, G. Bee (2008): Performances, meat quality and boar taint of castrates and entire male pigs fed a standard and a raw potato starch-enriched diet, *Animal*, 2, 1707- 1715
- Lundström, K., B. Malmfors, G. Malmfors, S. Stern, H. Petterson, A.B. Mortensen, S.E. Sørensen (1988): Skatole, androstenone and boar taint in boars fed two different diets. *Livestock Production Science* 18:55-67
- Zamaratskaia, G., E.J. Squires (2009): Biochemical, nutritional and genetic effects on boar taint in entire male pigs. *Animal* 3(11):1508-1521
- Zamaratskaia, G., J. Babol, H.K. Andersson, K. Andersson, K. Lundström (2005): Effect of live weight and dietary supplement of raw potato starch on the levels of skatole, androstenone, testosterone and oestrone sulphate in entire male pigs. *Livestock Production Science* 93:235-243
- Zamaratskaia, G., G. Cheng, K. Lundström (2006): Effect of sex, weight, diet and hCG administration on levels of skatole and indole in the liver and hepatic activities of cytochromes P4502E1 and P4502A6 in pigs. *Meat Science* 72:331-338

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

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.



- ✓ Ausgezeichnete QUALITÄT
- ✓ Nachvollziehbare HERKUNFT
- ✓ Unabhängige KONTROLLE

Impact of different levels of lysine and other essential amino acids on growth and slaughter performance as well as breast meat pH-value of broilers

Karl Schedle¹, Günther Hansmann¹, Jörg Bartelt², Rudolf Leitgeb¹ and Christiane Mair¹

¹ Institute of Animal Nutrition, Products, and Nutrition Physiology, Department for Agrobiotechnology, University of Natural Resources and Life Sciences Vienna

² Lohmann Animal Health GmbH

Introduction

The knowledge of the requirement of essential amino acids helps to optimize the different nutritional inputs at various stages of broiler production. Especially dietary protein reduction in combination with simultaneous supply of limiting amino acids significantly decreases environmental pollution with nitrogen and helps to save feeding costs. As widely described, increasing dietary lysine generally results in improved feed intake, feed conversion, and body weight gain. It can also alter carcass yield and composition by both increasing meat yield and reducing carcass fatness. Indeed, broilers with greater live weight and breast meat yield would exhibit breasts with higher final pH-value, darker colour and greater water holding capacity (Berri et al. 2008).

The aim of the present study was to evaluate the effect of different lysine compared to other essential amino acids on growth and slaughter performance as well as breast meat pH in broilers.

Methods

The study employed a total of 408 one-day old boiler chicks (ROSS 308) and was conducted at the poultry research station Leitgeb (Äussere Wimitz, Austria). In the first week (preperiod) the 408 chicks were divided evenly into the 24 pens and were fed a commercial starter feed. On day 8, chicks of each replicate (5 pens) were weighed combined, to determine average body weight. Subsequently, chicks which had less than 80% of the average body weight were eliminated. Hence, the trial started on live day 8 with 385 chicks (Table 1).

Chicks were weighed penwise at day 8 and 21, and individually at the end of the growth period (trial day 36) after 8 hours withdrawal of feed.

Grower and finisher diets were mixed in a 300 kg mixer at the trial station. Table 2 and 3 showed the diet composition and analysed nutrient contents of grower and finisher diets. Diets differed concerning the amount of digestible lysine (TG 1-3). Digestible Met, Thr, Trp, Arg, Ile, Val were supplemented until recommendation of the GfE (1998) were reached. Two groups were fed a 10% increase in respective amino acids with equal amounts of lysine as TG 2 and 3, respectively.

The animals had free access to feed and water for the whole fattening period. Lightening schedule was: 24 h/d for day 1 to 3; followed by 23 h/d until day 21; subsequently light schedule was 22 h/d until end of trial. Stable temperature started with an initially temperature of 28°C and was then reduced to 20°C depending on age and behavior.

Table 1: Experimental design

Traits	Trial Group (TG)				
	1	2	3	4	5
	grower period				
Grower period, d	14				
Dig. lysine in grower diets, %	0.90	1.00	1.10	1.00	1.10
Dig. lysine : dig. methionine = 1:		0.45		0.495	
Dig. lysine : dig. threonine = 1		0.67		0.737	
Dig. lysine : dig. tryptophan = 1:		0.21		0.231	
Dig. lysine : dig. arginine = 1 :		1.10		1.210	
Dig. lysine : dig. isoleucine = 1 :		0.67		0.737	
Dig. lysine : dig. valine = 1 :	n. c.	0.80	0.80	0.880	
	finisher period				
Finisher period, d	15				
Dig. lysine in grower diets, %	0.80	0.90	1.00	0.90	1.00
Dig. lysine : dig. methionine = 1:		0.45		0.495	
Dig. lysine : dig. threonine = 1		0.67		0.737	
Dig. lysine : dig. tryptophan = 1:		0.19		0.209	
Dig. lysine : dig. arginine = 1 :		1.10		1.210	
Dig. lysine : dig. isoleucine, %		0.67		0.737	
Dig. lysine : dig. valine = 1 :	n. c.	0.80	0.80	0.88	

n. c. = Natural content, without L-valine supplementation

At the end of the feeding trial, on day 36, the animals were slaughtered under standardized conditions in the slaughter house of the poultry station and pH-value 1h after slaughtering as well as after 16h at 4°C was evaluated using a pH-meter (testo GmbH, Germany). Furthermore, slaughter performance was determined.

All experimental data were statistically analysed by the GLM procedure of SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA). For the results of the growth performance, means of each dietary treatment were compared using the Student-Newman-Keuls test for each variable. Regarding the slaughter performance, any data observation which was more than 1.5 interquartile ranges lower than the first quartile or 1.5 interquartile ranges higher than the third quartile was considered as outlier. Outliers were removed prior to statistical evaluation. Least square means (LS-means) of dietary treatments were compared using the Tukey-Kramer-Test for each variable. Data are presented as means (growth performance) and the least square means (slaughter performance) of the dietary treatments as well as the pooled standard error of means (SEM) derived from the analysis of variance. Significant differences among means ($p < 0.05$) are indicated by superscripts.

Table 2: Components of grower and finisher diets

Components	Trial group				
	1	2	3	4	5
	grower diets				
DDGS (Actiprot®), %	10	10	10	10	10
Corn, %	19.94	19.42	18.75	18.91	18.19
Wheat, %	40	40	40	40	40
Soya-hp, %	20.61	20.70	20.82	20.79	20.92
Unifrutol ¹⁾ , %	5.98	5.98	6.01	6.01	6.04
Ca-Carbonate, %	1.294	1.291	1.287	1.288	1.284
Dicalcium-P, %	1.197	1.201	1.207	1.205	1.211
Salt, %	0.216	0.216	0.216	0.216	0.216
Vitamin premix G ²⁾ , %	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030
Trace element premix G ³⁾ , %	0.056	0.056	0.056	0.056	0.056
L-lysine-HCl, %	0.254	0.378	0.502	0.377	0.500
DL-methionine, %	0.153	0.199	0.245	0.245	0.296
L-threonine, %	0.047	0.115	0.182	0.182	0.257
L-tryptophan, %	0.006	0.027	0.048	0.048	0.071
L-arginine, %	0.030	0.141	0.252	0.252	0.374
L-valin, %	-	0.048	0.131	0.131	0.222
L-isoleucine, %	-	0.003	0.071	0.071	0.146
Cholin-Cl, %	0.120	0.120	0.120	0.120	0.120
Loxidan, %	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
ZY-Phytase, %	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
Elancoban, %	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
	finisher diets				
DDGS (Actiprot®), %	10	10	10	10	10
Corn, %	21.65	21.20	20.55	20.76	20.04
Wheat, %	40	40	40	40	40
Soya-hp, %	14.81	14.89	15.01	14.97	15.10
Corn gluten feed, %	2	2	2	2	2
Grass meal, %	2	2	2	2	2
Unifrutol ¹⁾ , %	6.61	6.61	6.64	6.63	6.66
Ca-Carbonate, %	1.101	1.099	1.095	1.096	1.092
Dicalcium-P, %	1.007	1.011	1.017	1.015	1.021
Salt, %	0.215	0.215	0.215	0.215	0.215
Vitamin premix G ²⁾ , %	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
Trace element premix G ³⁾ , %	0.056	0.056	0.056	0.056	0.056
L-lysine-HCl, %	0.273	0.397	0.520	0.395	0.519
DL-methionine, %	0.107	0.153	0.199	0.195	0.245
L-threonine, %	0.021	0.089	0.157	0.150	0.224
L-tryptophan, %	-	0.009	0.028	0.026	0.047
L-arginine, %	0.047	0.158	0.269	0.259	0.381
L-valine, %	-	0.011	0.094	0.085	0.177
L-isoleucine, %	-	-	0.056	0.049	0.124
Cholin-Cl, %	0.060	0.060	0.060	0.060	0.060
Loxidan, %	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010
ZY-Phytase, %	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010

¹⁾ Unifrutol: Mixture of 3 vegetable fats, melting point: 20°C

²⁾ 4000000 IU Vitamin A, 16500000 IU Vitamin D3, 165000 mg Vitamin E, 13500 mg Vitamin K, 10000 mg Vitamin B1, 25000 mg Vitamin B2, 15000 mg Vitamin B6, 75 mg Vitamin B12, 230000 mg Nicotinic acid, 65000 mg Pantothenic acid, 6500 mg Folic acid and 400 mg Biotine/kg

³⁾ 120 g Fe 120 g Zn, 180 g Mn, 30 g Cu, 2 g I, 2 g Co, 0.8 g Se /kg

Table 3: Analysed contents of nutrients in diets

Nutrients	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4	TG 5
	grower diet				
DM, %	88.9	88.8	88.8	89.4	89.4
<i>AME_N</i> , MJ/kg	<i>12.83</i>	<i>12.85</i>	<i>12.72</i>	<i>12.77</i>	<i>12.84</i>
Protein, %	20.0	20.6	21.2	21.0	21.3
Fat, %	8.6	8.5	9.5	8.1	8.4
Starch, %	38.1	38.2	36.6	37.7	41.6
Sugar, %	3.2	3.5	3.4	3.4	3.8
Lysine, %	1.05	1.16	1.27	1.18	1.31
Threonine, %	0.70	0.79	0.85	0.85	0.93
Methionine, %	0.436	0.498	0.536	0.539	0.593
Cystine, %	0.341	0.341	0.344	0.349	0.345
Methionine + Cystine, %	0.78	0.84	0.88	0.89	0.94
Tryptophan, %	0.237	0.267	0.282	0.289	0.307
Valin, %	0.89	0.96	1.05	1.05	1.15
Isoleucine, %	0.77	0.8	0.89	0.88	0.95
Leucine, %	1.48	1.53	1.56	1.55	1.57
Arginine, %	1.13	1.28	1.39	1.38	1.52
Phenylalanine, %	0.94	0.96	0.98	0.96	0.96
Ca, %	0.93	0.88	0.88	0.95	0.94
P, %	0.62	0.61	0.60	0.65	0.61
Na, %	0.13	0.13	0.13	0.14	0.13
Fe, mg/kg	120	121	115	125	111
Mn, mg/kg	131	123	127	130	111
Zn, mg/kg	139	124	122	137	131
Cu, mg/kg	22	20	22	23	23
	finisher diet				
DM, %	89.4	89.2	89.2	89.3	89.8
<i>AME_N</i> , MJ/kg	<i>12.97</i>	<i>13.04</i>	<i>13.05</i>	<i>13.01</i>	<i>13.14</i>
Protein, %	19.7	19.3	20.1	19.8	20.5
Fat, %	8.8	9.0	9.1	9.1	9.2
Starch, %	39.0	39.3	38.4	38.5	38.3
Sugar, %	3.0	3.1	3.1	3.0	3.2
Threonine, %	0.66	0.71	0.77	0.79	0.85
Methionine, %	0.4	0.454	0.481	0.512	0.545
Cystine, %	0.319	0.332	0.33	0.33	0.332
Methionine + Cystine, %	0.72	0.79	0.81	0.84	0.88
Tryptophan, %	0.22	0.229	0.246	0.245	0.267
Valin, %	0.86	0.89	0.96	0.96	1.05
Isoleucine, %	0.74	0.74	0.79	0.79	0.88
Leucine, %	1.58	1.57	1.57	1.58	1.6
Arginine, %	1.06	1.15	1.24	1.27	1.38
Phenylalanine, %	0.91	0.91	0.91	0.89	0.92
Ca, %	0.77	0.76	0.78	0.75	0.76
P, %	0.56	0.55	0.58	0.56	0.56
Na, %	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
Fe, mg/kg	111	114	123	122	127
Mn, mg/kg	110	123	125	123	125
Zn, mg/kg	120	121	126	125	124
Cu, mg/kg	19	19	20	19	20

Results

The trial started with a preperiod of 7 days with 408 one day old chickens. In this time 11 chicks died and 12 chicks were eliminated as nanochicks. In the grower and finisher period 9 broilers died.

The live weight (LW), daily weight gain (ADG), daily feed intake (dFI), physiological (pFE) and feed conversion ratio (FCR) are listed in Table 4.

At the onset of study, average LW of the chickens in the feeding groups ranged from 138 to 140 g. The LW at the end of the trial in TG 1, 2, 3, 4 and 5 was 2127, 2345, 2400, 2286 and 2349 g, respectively. The final LW of TG 1 was significantly lower compared to TG 2, 3, 4, and 5 ($p < 0.05$).

Average daily gain (ADG) was 49, 53, 56, 53, and 54 g in grower period and 87, 98, 98, 94, and 97 g in finisher period for TG 1, 2, 3, 4, and 5, respectively. In the grower period, TG 1 showed the lowest ADG ($p < 0.05$). Hence, increasing lysine content resulted in increasing ADG in the grower period. A rising content of the other amino acids compared to lysine affected no further beneficial growing effects. Similar to grower period, in the finisher period, the ADG of TG 1 was significantly lower than the other treatment groups ($p < 0.05$). Considering the entire fattening period, ADG were 69, 76, 78, 74, and 76 g, in TG 1, 2, 3, 4, and 5 respectively. ADG was significantly lower in TG 1 compared to the other treatment groups ($p < 0.05$).

Regarding dFI, no significant differences were observed in the grower and finisher period between treatment groups. The average daily feed intake reached 119 to 123 g per day during the whole growth period.

Trial groups with the highest content of lysine (TG 3 and 5) showed improved FCR compared to the other treatment groups ($p < 0.05$) in the grower period (Table 4). In the finisher period TG 1 recorded the most unfavourable FCR with 1.87 whereas TG 5 showed the best FCR with 1.62. An analogical trend was shown for FCR.

Table 4: Results of the growth performance (means)

	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4	TG 5	SEM	p-value
Live weight at day 8, g	139	140	139	140	138	0.95	0.133
Live weight at day 21, g	825 ^c	881 ^b	928 ^a	878 ^b	897 ^b	8.82	<0.001
Live weight at day 36, g	2127 ^b	2345 ^a	2400 ^a	2286 ^a	2349 ^a	25.16	0.001
grower period							
ADG, g	49 ^c	53 ^b	56 ^a	53 ^b	54 ^{ab}	0.72	<0.001
dFI, g	73	77	77	77	73	0.59	0.041
FCR, kg/kg	1.49 ^a	1.45 ^a	1.38 ^b	1.46 ^a	1.35 ^b	0.013	<0.001
finisher period							
ADG, g	87 ^b	98 ^a	98 ^a	94 ^a	97 ^a	2.1	0.010
dFI, g	162	165	167	162	157	2.8	0.232
FCR, kg/kg	1.87 ^a	1.70 ^{bc}	1.70 ^{bc}	1.74 ^b	1.63 ^c	0.020	<0.001
total fattening period							
ADG, g	69 ^b	76 ^a	78 ^a	74 ^a	76 ^a	1.3	0.001
dFI, g	119	123	123	121	117	1.8	0.150
FCR, kg/kg	1.74 ^a	1.61 ^b	1.59 ^{bc}	1.64 ^b	1.53 ^c	0.016	<0.001

^{a,b,c,d}: Different superscripts within a row indicate significant differences at $p \leq 0.05$

The results of slaughter performance are listed in Table 5. The differences between the feeding groups in weights of eviscerated and chilled carcasses and of carcass for grilling were similar to the differences in LW at the end of the growth period. The best results of LW, eviscerated and chilled carcass, carcass for grilling were achieved in TG 3. Increasing lysine content resulted in increasing weights of eviscerated and chilled carcass, carcass for grilling, and liver. Increasing the content of the other amino acids compared to lysine (TG 4 and 5) affected no further beneficial effects. The weights

of heart and gizzard were very similar between trial groups. Additionally, dressing percentage increased with raising lysine content in diets of lower amino acid proportion (TG 1, 2 and 3).

The pH-value in breast muscle after slaughter and after 16 h storage in a cooling chamber at +3°C showed a wide range (Table 6). Higher contents of L-lysine in the diets caused higher pH-values immediately after slaughtering. A similar picture was recorded for pH-value after 16 hours storage in a cooling chamber at +3°C.

The results of carcasses dissection into breast meat, legs, wings, remainder of carcass, head & neck and legs are shown in Table 7. Increasing lysine content showed statistically positive effects on weights of breast meat and legs, but only the relative proportion of breast meat in carcass for grilling was significant ($p < 0.05$).

The chicks showed normal behaviour in the pens. There was no reason for removing animals from treatments in any way and no abnormalities were observed in any form in carcasses and meat.

Table 5: Results of the slaughter performance (LS-means)

Traits	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4	TG 5	SEM	p-value
Eviscerated carcass, g	1639 ^c	1784 ^b	1871 ^a	1783 ^b	1833 ^{ab}	11.3	<0.001
Chilled carcass, g	1609 ^c	1750 ^b	1839 ^a	1757 ^b	1797 ^{ab}	11.0	<0.001
Carcass for grilling, g	1452 ^c	1586 ^b	1669 ^a	1586 ^b	1629 ^{ab}	10.0	<0.001
Abdominal fat, g	41 ^a	41 ^a	38 ^{ab}	40 ^{ab}	36 ^b	0.46	0.004
Heart, g	9.4	9.7	9.9	9.8	9.6	0.09	0.184
Liver, g	42 ^b	45 ^{ab}	48 ^a	45 ^{ab}	46 ^a	0.41	<0.001
Gizzard, g	27	27	29	28	28	0.23	0.069
Dressing, %	76.8 ^c	77.9 ^b	78.9 ^a	78.5 ^{ab}	78.6 ^{ab}	0.09	<0.001

^{a,b}: Different superscripts within a row indicate significant differences at $p \leq 0.05$

Table 6: pH-value and temperature in breast muscle (LS-means)

Traits	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4	TG 5	SEM	p-value
Animals, n	10	10	10	10	9	-	-
pH-value [†]	6.19 ^b	6.22 ^b	6.40 ^a	6.24 ^{ab}	6.29 ^{ab}	0.023	0.010
pH-value [‡]	5.56 ^b	5.69 ^{ab}	5.79 ^a	5.57 ^{ab}	5.69 ^{ab}	0.026	0.019

^{a,b}: Different superscripts within a row indicate significant differences at $p \leq 0.05$

[†] Immediately after slaughter (eviscerated carcass)

[‡] After 16 h storage in a cooling chamber at +3°C (chilled carcass)

Table 7: Results of dividing chilled carcasses into carcass parts (LS-means)

	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4	TG 5	SEM	p-value
Animals, n	10	10	10	9	10	-	-
Head & neck, g	96	95	93	95	97	1.76	0.929
Legs at the hock joints, g	69	71	72	75	75	1.80	0.300
Breast meat, g	385 ^b	454 ^{ab}	491 ^a	431 ^{ab}	488 ^a	10.52	0.003
Legs, g	436 ^b	477 ^{ab}	495 ^a	482 ^{ab}	487 ^{ab}	9.19	0.040
Wings, g	152	161	163	170	160	2.83	0.334
Remainder of carcass, g	462	475	514	514	495	9.70	0.225
<i>Relative proportion of carcass parts compared to the carcass for grilling</i>							
Breast meat, %	26.7 ^c	28.7 ^{abc}	30.1 ^a	27.5 ^{bc}	29.4 ^{ab}	0.33	0.001
Legs, %	30.5	30.2	29.6	30.2	29.9	0.23	0.767
Wings, %	10.6	9.9	9.9	10.7	10.0	0.11	0.030
Remainder of carcass, %	32.1	30.8	30.6	31.5	30.7	0.21	0.121

^{a,b}: Different superscripts within a row indicate significant differences at $p \leq 0.05$

Discussion

The data of the present study revealed a significant improvement in performance and breast meat proportion affected by rising lysine content. Our results were confirmed by other authors (Kidd et al. 2004, Dozier et al. 2008, Abudabos and Aljumaah 2010).

The body composition of broilers may be significantly affected by the amino acid lysine when administered at dietary levels higher than those required for maximum growth rate. This also results in an improved FCR. There is hierarchy of requirements: the requirement for maximum gain is lower than that for breast meat yield, which in turn is lower than the requirement for FCR (Leclercq 1998). Lysine is known to exhibit specific effects on carcass characteristics of broilers. It increases protein synthesis and decreases protein degradation in broilers (Kidd and Fancher 2001). Muscle protein is high in lysine which accounts for the higher lysine requirement when breast meat yield is used as the basis for setting the lysine requirement (Hickling et al. 1990, Schutte and Pack 1996).

An increase in amino acids dense of the other essential amino acids showed no further beneficial effect in performance and breast meat proportion, except for FCR. This is in contrast to other studies as reviewed by Dozier et al. (2008), where lysine amino acid interactions were observed.

Increasing lysine contents raised breast meat pH-value. Similar results were observed by Berry et al. (2008). It is well established that as the final pH increases, the water-holding capacity and potentially the processing ability of broiler breast meat are improved (Barbut 1997, Zhang and Barbut 2005)

Conclusion

An increasing lysine content in diets for broiler chicks', improved zootechnical performance and breast meat proportion. A 10% increase of the other essential amino acids compared to lysine (TG 4 and 5) only resulted in beneficial effects on feed conversion rate. Increasing lysine contents in broiler feed improved meat quality by rising meat pH-value.

References

- Abudabos A. and Aljumaah R (2010): Evaluation of Digestible Lysine Needs for Male Broiler. *Int J Poultr Sci* 9:1146-1151
- Barbut S. (1997): Problem of pale soft exudative meat in broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 38:355-358
- Berri C., Basnard J., Relandeau C. (2008): Increasing Dietary Lysine Increases Final pH and Decreases Drip Loss of Broiler Breast Meat. *Poultry Science* 87:480-484
- Dozier W.A., Kidd M.T., Corzo A. (2008): Dietary Amino Acid Responses of Broiler Chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 17:156-167
- Hickling D., Guenter M., Jackson M.E. (1990): The effect of dietary methionine and Lysine on broiler chicken performance and breast meat yield. *Can. J. Anim. Sci.* 70:673-678
- Kidd M.T. and Fancher B.I. (2001): Lysine needs of starting chicks and subsequent effects during the growing period. *J. Appl. Poult. Sci.* 76:608-614
- Kidd M.T., McDaniel C.D., Branton S.L., Miller E.R., Boren B.B., Fancher B.I. (2004): Increasing Amino Acid Density Improves Live Performance and Carcass Yields of Commercial Broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 13:593-604
- Leclercq B. (1998): Specific effects of lysine on broiler production: Comparison with threonine and valine. *Poult. Sci.* 77:702-710
- Schutte J.B. and Pack M. (1996): Effects of sulphur-containing amino acids on performance and breast meat deposition of broiler chicks during growing and finishing phase. *Br. Poult. Sci.* 36:747-762
- Zhang L. and Barbut S (2005): Rheological characteristics of fresh and frozen PSE, normal and DFD chicken breast meat. *Br. Poult. Sci* 46:687-693

Corresponding author

Dr. Karl Schedle
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie
Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie
Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11, A-1190 Wien
E-Mail: karl.schedl@boku.ac.at

Rohfaserkonzentrate in Broilerdiäten verbessern die Protein-verdaulichkeit – gibt es ein Einsparpotential für Sojaschrot?

Astrid Bosse

J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. KG, Rosenberg

Einleitung

Lignocellulosen werden im Futtermittelhandel unter dem Begriff "Rohfaserkonzentrate" (RFCs) angeboten. Es handelt sich hier um Faserquellen mit einem Rohfasergehalt von mindestens 60%. Bei der Herstellung dieser RFCs wird Holzmehl durch spezielle Mühlentechnologie feinst auffibrilliert (siehe Abb. 2) und es entsteht ein sehr homogenes Endprodukt. Daher können RFCs im Vergleich zu handelsüblichen Rohfaserträgern, wie Weizenkleie (siehe Abb. 1), auch als funktionale Fasern bezeichnet werden. Ein solches RFC kann die Mikrovilli im Darm stimulieren, es verfügt über ein sehr hohes Wasserbindungsvermögen und kann im Chymus ein Fasernetzwerk ausbilden. Standardmäßig werden RFCs bereits in den Rationen verschiedener Heim- und Nutztiere eingesetzt. Der Vorteil von RFCs gegenüber den üblichen Rohfaserquellen liegt auf der Hand. RFCs sind standardisiert, hochkonzentriert durch Hitzeeinwirkung hygienisiert und bedeuten kein zusätzliches Mykotoxinrisiko in der Ration.

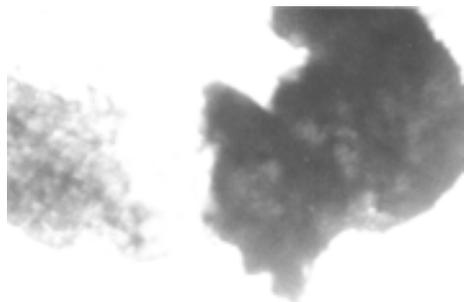


Abb. 1: Weizenkleie (50x Vergrößerung)

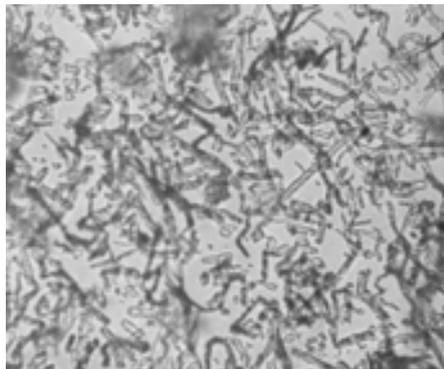


Abb. 2: RFC ARBOCEL® (50x Vergrößerung)

In Geflügelfutter wurde dem Rohfasergehalt als ernährungsphysiologischen Bestandteil der Ration, sofern es sich nicht um Futter für Spezialgeflügel handelte, kaum Bedeutung beigemessen. In Bezug auf feuchte Einstreu und Kannibalismus zeigen aktuelle Untersuchungen jedoch, dass dem Rohfasergehalt bzw. dem Anteil unlöslicher Nicht-Stärke-Polysaccharide (uNSP) mehr Bedeutung zukommt als bisher angenommen. uNSP, wie Lignocellulosen, können den Gastrointestinaltrakt (GIT) modulieren (Verweildauer in GIT Abschnitten) und so das Verhalten (Federpicken, Kannibalismus) der Tiere positiv beeinflussen (Hartini und Choct 2010, 2011). Des Weiteren können RFCs als funktionale Fasern mit hohem reversiblen Wasserbindungsvermögen zu trockenerer Einstreu beitragen. Feuchte Einstreu (>35% Feuchtegehalt) ist maßgeblich an der Bildung von Fußballenläsionen und Brustblasen beteiligt. Diese gesundheitlichen Probleme sind mit Leistungseinbußen und reduzierter Schlachtkörperqualität verbunden. Über den Kapillareffekt binden RFCs Wasser, wo es erforderlich ist und lassen es wieder frei, wo es physiologisch benötigt wird. Das Wasser bleibt im Organismus. Dies ist der sogenannte „Schwammefekt“, der zu besserer Einstreuqualität beiträgt (Rezaei et al. 2011, Farran 2011).

Einfluss von RFCs auf die Proteinverdaulichkeit

Der positive Effekt von RFCs auf die Proteinverdaulichkeit der Ration wurde bereits in der Vergangenheit bei verschiedenen Tierarten beobachtet. In einer Untersuchung von Lindermayer et al. (2003) konnte durch Einsatz eines RFCs die Verdaulichkeit von Rohfett und Rohprotein in Sauenfutter im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit konventionellen Rohfaserträgern gesteigert werden. Bosch et al. (2009) konnten beim Vergleich von Hundediäten mit leichtfermentierbaren und schwerfermentierbaren Faserteilen ebenfalls höhere scheinbare Verdaulichkeiten für Rohfett und Rohprotein in den Diäten ermitteln, die schwerfermentierbare Faserteile (RFCs) enthielten.

In Broilern untersuchten Dohms (2006) und Sarikhan et al. (2010) den Einfluss von RFCs auf die Schlachtkörperausbeute. In beiden Versuchen konnte neben einer besseren Futterverwertung und Gewichtsentwicklung eine signifikant höhere Schlachtkörperausbeute und ein geringeres abdominales Fettpolster ermittelt werden. Inwiefern eine bessere Nährstoffverdaulichkeit an gestiegenen Schlachtkörperausbeuten beteiligt ist, wurde 2011 an der American University of Beirut untersucht. 1200 männliche Eintagsküken der Linie Ross 308 wurden über einen Zeitraum von 38 Tagen gemästet. Die Tiere wurden hierzu in eine Versuchsgruppe (0,8% RFC ARBOCEL[®]) und eine Kontrollgruppe (0,8% Weizenkleie) unterteilt mit sechs Wiederholungen pro Gruppe (100 Broiler/Gruppe in Bodenhaltung). Broiler hatten ad libitum Zugang zu der Versuchsdiät und Wasser. Im Rahmen des Verdauungsversuches wurden vier Tiere je Gruppe einem Verdauungsversuch nach Fuente et al. (1998) unterzogen. Futter- und Kotproben wurden auf Feuchtegehalt, Fett und Protein untersucht (AOAC, 1990) und die Verdaulichkeitskoeffizienten bestimmt. Am Ende des Versuchszeitraums wurden die Broiler geschlachtet und bei 60 Tieren/Gruppe wurden Organgewichte (Leber, Muskelmagen, Herz und Milz), abdominales Fettpolster und Schlachtkörperausbeute erfasst. Die Daten in Tabelle 1 zeigen, dass der Einsatz von 0,8% RFC tatsächlich zu einer Reduktion des Fettanteils bei höherer Schlachtkörperausbeute führen. Die Verdaulichkeit von Protein war signifikant erhöht.

Tabelle 1: Einfluss von 0,8% RFC auf abdominales Fettpolster, Proteinverdaulichkeit und Schlachtkörperausbeute

	Kontrolle	Versuch (0,8 % RFC)	SEM
Fettpolster (%)	1,23 ^a	1,11 ^b	0,04
Proteinverdaulichkeit (%)	57,4 ^a	62,9 ^b	0,40
Schlachtkörperausbeute (%)	68,4 ^a	69,5 ^b	0,22

Unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede in einer Reihe ($p < 0.05$)

Dies ist auf die speziellen Eigenschaften von aufbereiteten uNSP (Lignocellulosen/Cellulosen) zurückzuführen. Die Fähigkeit der feinstfibrillierten Fasern ein Netzwerk im Chymus auszubilden und das Wachstum der Mikrovilli zu fördern (Sarikhan et al. 2010) führt zu einer besseren Ausstattung der Darmoberfläche mit Enzymen und erleichtert die Penetration des Chymus durch Verdauungsenzyme. Boguslawska-Tryk (2005) untersuchte den Einfluss von unterschiedlichen Cellulose-Zulagen auf die proteolytische Aktivität der Bauchspeicheldrüse in Broilern. In einem Mastversuch über 42 Tage wurden 36 Broiler (Cobb) unter standardisierten Bedingungen gehalten und ad libitum mit isokalorischen und isonitrogenen Mais/Weizen/Soja-Diäten gefüttert. Den experimentellen Faktor stellte die Zulage von Cellulose dar. Neben einer Kontrollgruppe wurden drei Versuchsgruppen mit Zulage von 0,25%; 0,50% und 0,75% Cellulose (ARBOCEL[®]) gebildet.

Tabelle 2: Körpergewicht und Aktivität von Trypsin und Chymotrypsin in der Bauchspeicheldrüse von Broilern mit unterschiedlichen Gehalten an Cellulose

Parameter	Gruppe			
	C	E 1	E 2	E 3
Körpergewicht (g)	2120 ± 158	2317 ± 111*	2216 ± 179	2293 ± 191*
Trypsin (IU/mg Protein)	8,2 ± 6,2	19.0 ± 8,5*	28.5 ± 8,7*	18,0 ± 4,4*
Chymotrypsin (IU/mg Protein)	16,2 ± 6,2	28.4 ± 5,3*	30.0 ± 4,7*	19,4 ± 6,6

*Ergebnisse sind die Mittelwerte ± Standardabweichung; * kennzeichnet signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrolle ($p < 0,05$)*

Tabelle 2 zeigt, dass neben einem positiven Einfluss der Cellulose auf die Gewichtsentwicklung signifikante Unterschiede in der Aktivität von Trypsin und Chymotrypsin in den drei Versuchsgruppe E1-E3 im Vergleich zur Kontrollgruppe ermittelt werden konnten. Die höchste Aktivität wurde in Gruppe 2 mit einer Cellulosezulage von 0,5% erreicht. Der genaue Mechanismus, den das RFC auf die exokrine Funktion der Bauchspeicheldrüse hat, ist laut Boguslawska-Tryk nicht völlig klar. Die vorliegenden Untersuchungen ließen darauf schließen, dass die Faser, die Dosierung und die Dauer der Verabreichung entscheidend sind. Vermutlich ist die Änderung der exokrinen Aktivität auf die Induktion gastrointestinaler Hormone wie Cholecystinin durch die Faser zurückzuführen. Diese wiederum aktivieren die Sekretion der Bauchspeicheldrüse.

Beitrag von RFCs zur Schonung von Futterressourcen - Beitrag zu einer effizienteren Produktion

Zu Zeiten einer wachsenden Weltbevölkerung und gleichzeitig begrenzten Nutzungsflächen muss die Tierernährung zukünftig bei der Herstellung tierischer Lebensmittel eine effizientere Produktion und damit Schonung von Futterressourcen vorsehen. Die oben beschriebenen Untersuchungen lassen den Schluss zu, dass durch den Einsatz von Rohfaserkonzentraten mit ihrer Fähigkeit, die Proteinverdaulichkeit positiv zu beeinflussen, ein reduzierter Sojaextraktionsschrot-Einsatz möglich ist.

Sojaextraktionsschrot ist der wichtigste Proteinträger in der Geflügelfütterung. Europa ist aber weitestgehend abhängig vom Import aus Nord- und Südamerika, da die klimatischen Bedingungen in Europa den Anforderungen der Sojapflanze nicht entsprechen. Einheimische Proteinträger werden zwar gefördert, können aber das hochwertige Protein der Sojabohne nur teilweise ersetzen.

Um die Einsparmöglichkeit von Sojaextraktionsschrot bei Einsatz von Lignocellulosen im Futter für Broiler zu untersuchen (Hrůšová und Ripplová 2011), wurde in einem Versuch in der Versuchsstation Mezinárodní Testování Drůbeže, Tschechische Republik 0,6% Sojaextraktionsschrot durch 0,6% Lignocellulose (ARBOCEL®) ersetzt. Eintagsküken der Linie ROSS 308 wurden über einen Zeitraum von 35 Tagen in Laufställen mit je 35 Broilern gehalten (Besatzdichte 19,66/m²). Zehn Gruppen wurden der Kontrollgruppe und zehn Gruppen der Versuchsgruppe mit 0,6% RFC zugewiesen. Futter und Wasser wurden ad libitum angeboten. Die Phasenfütterung sah ein Starter- (Tag 1-14), Grower- (Tag 15-21) und Finisher-Futter (Tag 29-35) vor. Die Lignocellulose wurde im Starter- und Grower-Futter verabreicht. Tabelle 3 zeigt die erfassten Leistungsparameter.

Tabelle 3: Leistungsparameter

		Kontrolle	Versuch (0,6% RFC)
Endgewicht pro Broiler (g)	n.s.	2095±262,4	2118±251,11
Tageszunahmen pro Broiler (g)	n.s.	58,50±3,39	59,30±3,05
Gesamte Gewichtszunahme pro Gruppe (kg)	-	698,49	709,56
Futteraufnahme Gesamt pro Gruppe (kg)	-	1206,1	1209,2
FVW (g/g)	n.s.	1,73±0,052	1,70±0,058
Tierverluste (%)	-	4,6	4,3
EEI (Europäischer Effizienz Index)	-	330	340

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe von ANOVA Methoden ausgewertet; $p > 0,05$ bedeutet keine signifikanten Unterschiede (n.s.)

Der Austausch von 0,6% Sojaextraktionsschrot gegen Lignocellulose (ARBOCEL®) bei ansonsten gleichbleibenden Diäten zeigt, dass die Leistung der Versuchsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe nicht abfällt; tendenziell schnitten die Broiler die während der Mast Lignocellulose erhielten sogar besser ab. Das höhere Gewicht der Tiere zu Mastende bei minimal erhöhter Gesamtfutteraufnahme und guter Futtermittelverwertung resultiert bei Berücksichtigung der Kosten für ARBOCEL® sogar in einem zusätzlichen Ertrag (Tabelle 4).

Tabelle 4: Kalkulation

	Einheit	Kontrolle	Versuch	Differenz
Gesamte Futterkosten	€	383	384,3	1,27
Gesamtgewicht	kg	698,49	709,56	11,07
Broilerpreis	€/kg	0,80	0,80	-
Ertrag durch gestiegene Produktion	€	-	-	8,85
Zusatzkosten ARBOCEL®	€	-	1,27	1,27
Zusätzlicher Ertrag	€			7,58

Schlussfolgerung

Futtermittel sind der wichtigste Kostenfaktor in der Tierhaltung. Vor dem Hintergrund einer wachsenden Weltbevölkerung und einem höheren Verbrauch an tierischen Lebensmitteln muss das Ziel der Tierernährung sein, Futterressourcen so effizient wie möglich zu nutzen. Lignocellulosen (ARBOCEL®) können dazu beitragen, diese Effizienz zu steigern. Denn die Fähigkeit unlöslicher Nicht-Stärke-Polysaccharide (uNSP) den Gastrointestinaltrakt zu modulieren und so die Proteinverdaulichkeit der Ration zu verbessern, erlaubt es einen Teil Sojaextraktionsschrot in Broilerrationen einzusparen ohne die Leistung der Tiere negativ zu beeinflussen.

Literatur

- AOAC (1990): Official methods of analysis. 15th ed. K. Herlich, Assoc. Offic. Anal. Chem., Arlington VA, USA
- Boguslawska-Tryk M. (2005): Effect of different levels of cellulose in the diet on the proteolytic activity of the pancreas in broiler chickens. *Folia biologica* 53:19-23
- Bosch G., Verbrugge A., Hesta M., Holst J.J., van der Poel A.F.B., Janssens G.P.J. und Hendriks W.H. (2009): The effects of dietary fibre type on satiety-related hormones and voluntary food intake in dogs. *Br. J. Nutr.* 102: 318-325
- Dohms J. (2006): Raw fibre concentrate improves broiler performance. *World Poultry* 22(11): 13-14
- Farran M.T. (2011): Effect of dietary lignocellulose ARBOCEL® RC Fine on the performance and carcass quality of broilers. American University of Beirut, Lebanon (persönliche Korrespondenz)
- Fuente M.T., Perez de Ayala P., Flores A. und Villamide M.J. (1998): Effect of storage time and dietary enzyme on the metabolizable energy and digesta viscosity of barley-based diets for poultry. *Poultry Sci.* 77:90-97
- Hartini S. und Choct M. (2010): The effect of diets containing different level of non-starch polysaccharides on performance and cannibalism in laying hens. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 35(3):145-150
- Hartini S. und Choct M. (2011): Effect of mash dietary fiber on performance and cannibalism in laying hens. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 36(1): 50-54
- Hrůšová E. und Ripplová E. (2011): Evaluation of fattening test nr. 5-2011. Mezinárodní Testování Drůbeže, Tschechische Republik (persönliche Korrespondenz)
- Lindermayer H., Propstmeier G. und Rimili S. (2003): Fütterung tragender Sauen – Tragefutter ohne und mit Cellulose. LfL-Informationsbroschüre, online: http://www.lfl.bayern.de/ite/schwein/14649/linkurl_0_0_0_2.pdf
- Sarikan M., Shahryar H.A., Gholizadeh B., Hosseinzadeh M.-H., Beheshti B. und Mahmoodnejad A. (2010): Effects of insoluble fiber on growth performance, carcass traits and ileum morphological parameters on broiler chick males. *Int. J. Agric. Biol.* 12:531-536

Autorenanschrift

Dr. Astrid Bosse
J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. KG
BU Animal Nutrition
Holzmühle 1
73494 Rosenberg, Germany
E-Mail: astrid.bosse@jrs.de

Saisonale Unterschiede in der Verdauung des Rotwildes anhand der Untersuchung der Verdaulichkeit von in silierten Zuckerrübenpressschnitzeln enthaltenen Nährstoffen

Miroslav Vodnansky¹, Matúš. Rajský² und Vladimír Foltys²

¹ Mitteleuropäisches Institut für Wildtierökologie, Wien, Brno, Nitra, Institut für Wildtierökologie der Veterinärmedizinischen und Pharmazeutischen Universität Brünn

² Institut für Tierernährung, Forschungszentrum für Nutztierhaltung, Nitra

Einleitung

In Zusammenhang mit der Wildfütterung wird oft die Frage gestellt, ob das Rotwild im Winter ein bestimmtes Futter mit einem höheren Nährwert gut verdauen kann. Um diese Frage zu klären, wurde in gezielten Bilanzversuchen die Verdaulichkeit (scheinbare Verdaulichkeit) der in als Modell-Versuchsfutter ausgewählten Zuckerrübenpressschnitzelsilagen enthaltenen Nährstoffe beim Rotwild im Winter (Februar) sowie im Sommer (Juli) untersucht. Es sollte dabei festgestellt werden, ob bei der Verdauung dieses Futters beim Rotwild saisonale Unterschiede bestehen.

Material und Methoden

Am Anfang der Versuche wurde der durchschnittliche Gehalt an Nährstoffen und Fermentationsprodukten in der Zuckerrübenpressschnitzelsilage (Fa. Agrana Zucker GmbH) analysiert (Tabelle 1 und 2). Dabei zeigten sich bei einem Vergleich der Gehalte an Nährstoffen und Fermentationsprodukten bei den Silagen, die während des Winters und im Sommer in den Versuchen verwendet wurden, keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 1: Durchschnittliche Zusammensetzung der Zuckerrübenpressschnitzel-Silage (g/kg)

Nährstoff	in Frischmasse	in Trockensubstanz
Trockensubstanz	288.38	-
Wasser	711.62	-
Rohprotein	24.86	86.20
Rohfaser	58.71	203.59
Rohfett	2.10	7.29
Rohasche	26.24	90.99
N-freie Extraktstoffe	176.47	611.93
Organische Masse	262.14	909.01
Ca	2.30	7.98
P	0.21	0.73
Na	0.09	0.30
K	0.76	2.63

Die Analysen sowie die gesamte Bewertung der in den Versuchen verwendeten Zuckerrübenpressschnitzelsilage ergaben eine sehr hohe Qualität dieses Futters. Die durchschnittlichen Gehalte an Fermentationsprodukten (Winter und Sommer) sind in der Tabelle 2 angeführt. Die Qualitätsbewertung der Silage erfolgte nach dem Bewertungsschlüssel und den gültigen Richtwerten des Landwirtschaftsministeriums der Slowakischen Republik.

Tabelle 2: Beurteilung der Silagequalität anhand der durchschnittlichen Gehalte an Fermentationsprodukten (g/kg)

Fermentationsprodukt	in Frischmasse	in Trockensubstanz
Essigsäure	3.85	13.30
Propionsäure	0.14	0.50
Buttersäure + izo	0.15	0.51
Valersäure + izo	0.05	0.17
Kaprionsäure	0.04	0.14
Gesamte flüchtige Fettsäuren	4.23	14.67
Milchsäure	11.01	38.18
Gesamte Fettsäuren	15.24	52.85
Alkohole	1.33	4.61
Fermentationsprodukte	16.57	57.46
Silagebeurteilung	I. Klasse – sehr gut Qualität	

Anmerkung: pH = 3.84

Die Untersuchungen hatten folgende Fragestellungen: 1. Die Ermittlung der scheinbaren Verdaulichkeit von Nährstoffen mit Hilfe der Differenzialmethode im Winter. 2. Die Ermittlung der scheinbaren Verdaulichkeit von Nährstoffen durch Differenzialmethode im Sommer.

Die Fütterungsversuche wurden mit 4 Stück des Rotwildes durchgeführt, die einzeln in den Stoffwechselboxen eingestellt waren. In dem ersten Experiment haben wir die Verdaulichkeit von Nährstoffen in der Futtermischung festgestellt, die aus 1.0 Kg Luzerneheu und 4.0 Kg Zuckerrübenpressschnitzelsilage bestand. Im zweiten, nachfolgenden Experiment wurde die Verdaulichkeit von Luzerneheu als Alleinfutter (2.0 Kg/Tag/Stück) ermittelt. Daraufhin haben wir die Verdaulichkeit der silierten Zuckerrübenpressschnitzel berechnet. Die Ergebnisse wurden statistisch mit ANOVA, SAS 2002, v. 1.9 ausgewertet.

Ergebnisse

Die Versuchsergebnisse zeigten sehr hohe Verdaulichkeitswerte sowohl im Winter als auch im Sommer. Die Verdaulichkeit der organischen Substanz lag im Winter bei 84,73 % und im Sommer bei 83,55 %. Die Verdaulichkeit der Rohfaser betrug im Winter 86,10 % und im Sommer 84,49 %. Die Verdaulichkeit des Rohproteins lag bei 47,17 % im Winter und bei 51,63 % im Sommer. Die Verdaulichkeit der stickstofffreien Extraktstoffe lag bei 88,73 im Winter und bei 87,02 % im Sommer. Die bei diesen Untersuchungen festgestellten Unterschiede waren nicht statistisch signifikant. Die Schwankungsbreite der festgestellten Verdaulichkeitswerte bei einzelnen Versuchstieren war minimal (Winter: SD = 1.3, Sommer: SD = 1.1).

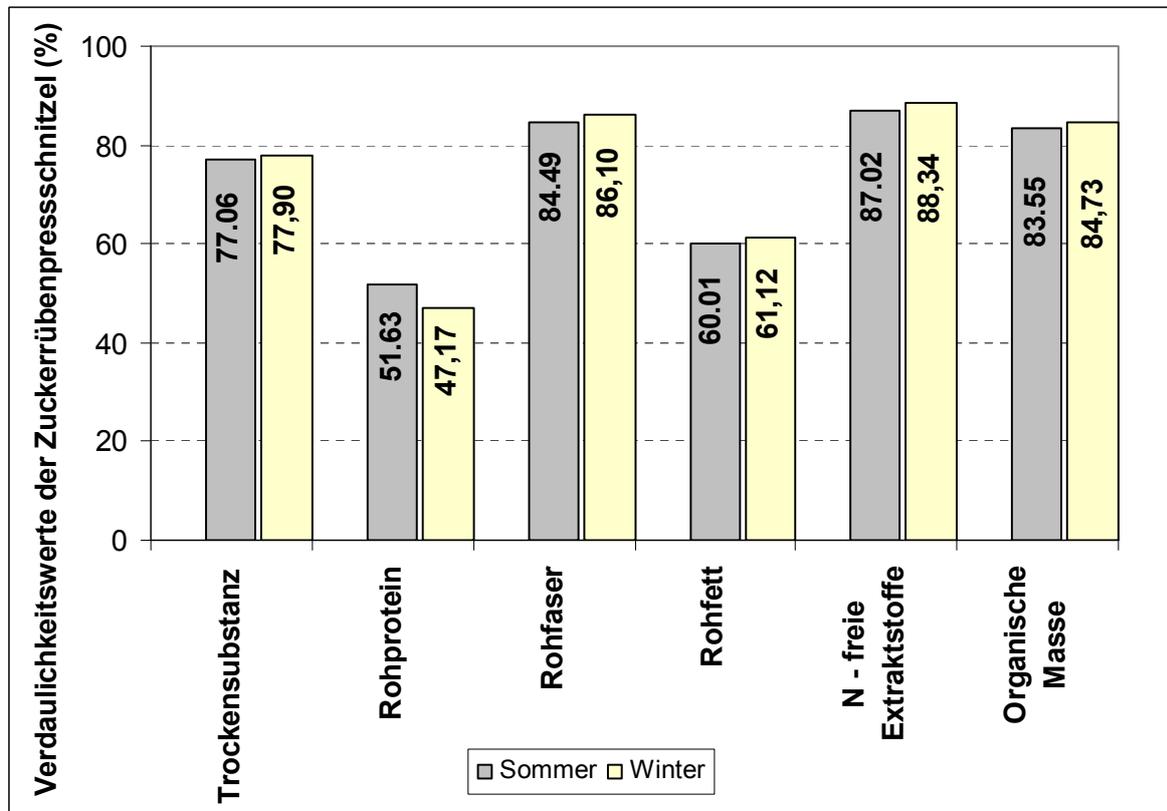


Abbildung 1: Vergleich der Verdaulichkeitswerte bei den Nährstoffen in der Zuckerrübenpressschnitzelsilage (%) beim Rotwild im Sommer und Winter. Die festgestellten Unterschiede sind nicht statistisch signifikant.

Diskussion

Es ist davon auszugehen, dass für die in unseren Versuchen festgestellte hohe Verdaulichkeit der Zuckerrübenpressschnitzelsilage in erster Linie die gute Qualität dieses Silierfutters ausschlaggebend ist. Die umsetzbare Energie je 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 (Vodnansky et al. 2011).

Die Unterschiede zwischen den festgestellten Verdaulichkeitswerten im Sommer und im Winter waren nicht signifikant. Dies ist ein Hinweis darauf, dass der Ablauf der Verdauung beim Rotwild nicht von der Jahreszeit, sondern primär von der Zusammensetzung und Verfügbarkeit der Nahrung abhängig ist. Die Jahreszeit spielt für die im Pansen vorhandenen Mikroorganismen keine Rolle. Da diese im Panseninneren über das ganze Jahr weitgehend die gleichen Bedingungen (kein Licht, keine Luft, weitgehend konstante Temperatur) haben, unterliegen sie keinem direkten Einfluss jener Faktoren, die für die saisonale Umstellung des Stoffwechsels ihrer Wirtstiere hauptsächlich verantwortlich sind (Lichtintensität und Tageslänge). Dies bedeutet, dass das Rotwild auch im Winter eine nährstoffreiche Nahrung ebenso wie in anderen Jahreszeiten gut verdauen kann, sofern die Pansenmikroorganismen auf ihre Zusammensetzung eingestellt sind. Eine andere Situation kann allerdings dann entstehen, wenn sich die Nahrung innerhalb kurzer Zeit ändert. So können z. B. ein abrupter Nahrungswechsel oder eine plötzliche Einstellung der Fütterung zu Verdauungsstörungen führen. Es dauert mindestens 2-3 Wochen, bis sich die Mikroorganismen im Pansen auf die neu entstandene Nahrungssituation allmählich anpassen.

Literatur

Vodnansky, M., Rajský, M., Foltys, V., Bencová, E. (2011): Eignung der silierten Zuckerrübenpressschnitzel als Zusatzfutter für das Rotwild (poster). In: Tagungsband 10. BOKU - Symposium Tierernährung, Gesunde Tierernährung Qualität vom Futtermittel bis zum Nahrungsmittel, 28. April, 2011, Universität für Bodenkultur Wien, 226 – 230, ISBN 978-3-900962-94-4

Autorenanschrift

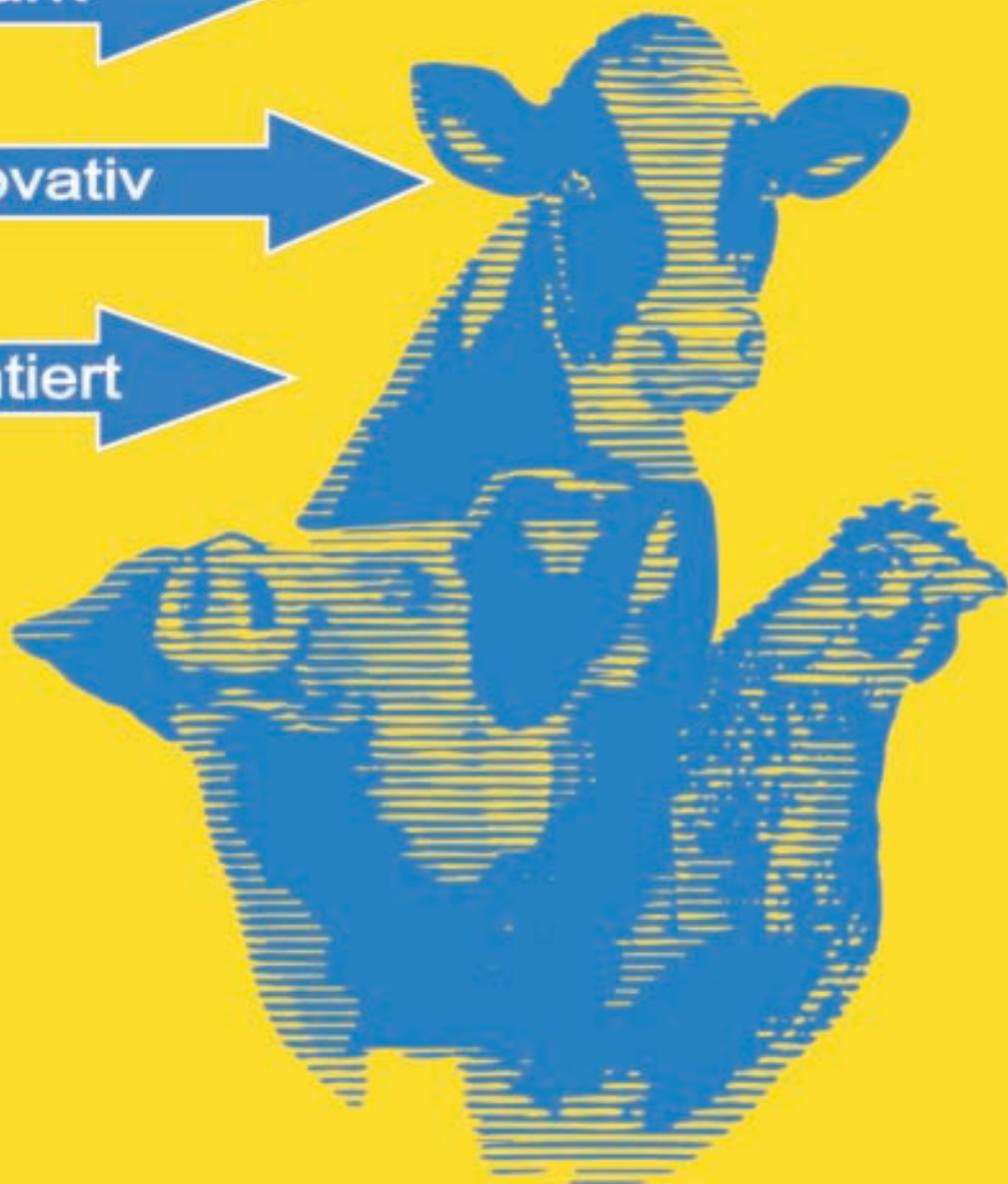
Dr. Miroslav Vodnansky, PhD.
Mitteleuropäisches Institut für Wildtierökologie, Wien, Brno, Nitra
Erzherzog Karlstrasse 33/2/82, A-1220 Wien
vodnansky@chello.at

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

The use of genetically modified maize (MON 88017 X MON 89034) in rabbit diets

Mária Chrenková¹, Ľubica Chrastinová¹, Andrea Lauková², Mária Poláčiková¹, Zuzana Formelová¹, Iveta Plachá², Renáta Szabóová², Ľubomír Ondruška¹, Vladimír Parkányi¹, Ján Rafay¹ and Monika Pogány Simonová²

¹ Animal Production Research Centre, Nitra, Slovak Republic

² Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Slovak Republic

Abstract

Genetically modified (GM) crops, which have been developed, offer a wide variety of benefits to producers including resistance to insects, disease and herbicides. GM maize MON 88017 x MON 89034 contains different transgenic traits: Bt toxins against Lepidoptera (butterflies and moths), Bt toxin against Coleoptera, and glyphosate tolerance.

The objective of this work was to determine the effect of selected maize hybrids (MON 88017 X MON 89034) in diets on nutrient digestibility and performance, characterization of meat quality, physical and chemical characteristics of meat in MLD muscle substance, and caecal fermentation pattern in rabbits. Live weight growth, feed conversion and health of rabbits after feeding the complete feed mixtures with 12 % proportion of Bt (MON 88017 x MON 89034), isogenic maize and reference maize (LG 3475) was tested on 90 broiler rabbits (Hycola). Bt maize deteriorated neither the health in animals nor the production of animal proteins valuable for human nutrition compared with conventional maize.

Introduction

In the European context, Slovakia ranks among other 7 EU countries, which have practical experience in Bt maize cultivation; these are: Spain, France, Romania, Portugal, Germany, the Czech Republic and Poland (Křistková, 2010; Ervin et al., 2010).

In the review article "Animal nutrition with feeds from genetically modified plants" Flachowsky et al. (2005), Sommer et al, (2004) and Chrenková et al, (2007) summarized the effects on the nutrients digestibility and selected fattening data and performance of animals; these parameters were unaffected by the genetic modification.

We assessed substantial equivalence in nutrient contents between isogenic and Bt maize by means of chemical analyses. We tested genetically modified maize (Bt maize MON 88017 x MON 89034), isogenic maize (DKC 5143) and reference maize (LG 3475) in the experiment with rabbits.

Materials and methods

A total of 90 weaned rabbits (35th day of age, male sex, Hycola hybrid, housed individually in cages) were divided into 3 experimental groups.

The rabbits in the 1st group were fed granulated mixture including 12% transgenic maize (MON 88017 x MON 89034).

The rabbits in the 2nd group were fed granulated mixture including 12% isogenic maize (DKC 5143).

The rabbits in the 3rd group were fed granulated mixture including 12% reference maize (LG 3475).

The experiment lasted for 42 days. Rabbits were kept in standard cages (0.61 m x 0.34 m x 0.33 m), 1 animal per cage. Body weight and feed consumption were registered weekly. In the fattening experiment were studied the growth of live weight and consumption of feed mixtures per unit of live weight growth. Between 65 and 70 days of age, 5 rabbits from each group were selected for digestibility tests using the balance method. The digestibility test was performed in accordance with the recommended methodology (Meartens and Lebas, 1989).

The samples of individual feeds were analyzed for content of nutrients (Table 1; Table 2) according to procedures of the AOAC (1995), and starch according to the alpha-amylglucosidase method. The ME content was calculated by the equation of Wiseman et al. (1992). Rabbits were fed *ad libitum* and they had free access to drinking water from nipple drinkers during the experiment. The diet formulation (complete granulated mixture, pellets of 3.5 mm diameter) for all groups is presented in Table 2.

Table 1: Analysis results of maize corn growing on allotment in CVRV Piešťany

Investigated parameters (g.kg ⁻¹)	1- transgenic maize MON 88017 x MON 89034	2-isogenic maize DKC 5143	3-reference maize LG 3475
Dry matter	865.06	854.80	855.93
Crude protein	54.55	55.26	56.12
Crude fibre	17.38	18.74	23.02
Fat	30.32	30.18	25.81
Ash	11.67	11.03	11.38
N-Free Extract	751.14	739.58	739.60
Organic matter	853.39	843.77	844.55
Starch	658.08	653.33	642.17
Sugar total	35.78	28.21	12.03
Calcium	0.23	0.15	0.69
Phosphorus	1.66	1.98	1.70
ME MJ.kg ⁻¹	12.97	12.94	12.77

Three animals from each group were slaughtered on 42nd day; they were stunned by electro-narcosis (90V for 5s), immediately hung by the hind legs at the processing line and quickly bled by cutting the jugular veins and carotid arteries. After the bleeding, the *Musculus longissimus dorsi* (MLD) was separated by removing skin, chilled and stored 24 h at 4°C until physico-chemical analysis (according STN 57 0185). Total water, protein and fat contents were estimated using an INFRATEC 1265 spectroscope and expressed in g/100g; from these values the energy value was calculated

$$[EV(kJ/100g) = 16.75 \times \text{Protein content} + 37.68 \times \text{Fat content}]$$

Water holding capacity (WHC) was determined by compress method at constant pressure (Hašek and Palanská, 1976). The caecal samples from each of three slaughtered rabbits were collected for analysis; pH, VFA, ammonia-N and lactic acid were determined.

The results were quoted as mean ± standard deviation (SD); statistical evaluation of the results was performed by the one-way ANOVA and Tukey test.

Results and discussion

The study was carried out in the Animal Production Research Centre, Nitra, in the Institute of Nutrition. The performance of feed conversion in three mixtures with 12% of transgenic maize, isogenic maize and reference maize intended for broiler rabbits were studied: MON 89034 x MON 88017 was produced by crossing of two events using conventional breeding methods; this stacked maize hybrid MON 89034 x MON 88017 is the combination of two genetically modified parental lines MON 89034 and MON 88017 which inherited resistance to lepidopteran pests from MON 89034 and tolerance to glyphosate and from MON 88017 the resistance to certain coleopteran pests, in our conditions to the Western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte).

After weaning at day 39, the rabbits were fattened until they were 77 days old (granulated mixture, *ad libitum*). We did not find large differences among experimental groups in feed intake, body weight and carcass value in the fattening experiment (Table 3).

The resulting digestibility coefficients for protein fell within the narrow range of 60.18 to 68.65 % and fat digestibility were within the interval from 74.88 to 86.61 %, which were similar to the data of Chrastinová et al. (2006). Feed mixtures differed regarding digestible energy content i.e. crude protein, crude fibre and fat. Physico-chemical properties of rabbit meat are presented in Table 4. Concentration of observed VFA shows that the most intensive process was in caecum of rabbits in experimental groups (Table 5).

The lower concentration of ammonia-N affects pH value in experimental group 3. High concentration of acetic acid, propionic acid, butyric acid and lactic acid were in the caecum of rabbits with the supplemented reference maize LG 3475. This tendency toward increased biochemical and fermentative processes in the caecum of rabbits that results in the lower level fibre and high level starch in diet 3.

Feeding of genetically modified maize to rabbits did not influence biochemical and zoo technical parameters negatively, as well as it had no negative effect on the growing performance.

Table 2: Ingredients and chemical analysis of the experimental diets for rabbits

Feed ingredients	in %	Chemical analysis (g. kg ⁻¹)	Experimental group with maize		
			1- transgenic MON88017 x MON 89034	2- isogenic DKC 5143	3- reference LG 3475
Lucerne meal	41.0	Dry matter	894.8	893.7	894.8
Dried beet pulp	19.0	Crude protein	157.4	157.3	158.6
Rape extr. meal	20.0	Crude fibre	192.9	191.9	188.7
Wheat	3.0	Fat	29.9	30.5	29.2
		N free extract	438.8	437.7	442.4
Maize	12.0	Organic matter	819.1	817.3	818.9
Molasses	0.9	Starch	136.5	136.5	141.7
Mineral & Vitamins*	3.2	Calcium	6.6	6.9	6.8
Rape oil	0.5	Phosphorus	4.9	5.5	5.7
Limestone, pulverized	0.4	ME (MJ. kg ⁻¹)	10	10	10.1

*Provided per kg diet: vit. A 12000 IU; vit. D₂ 2500 IU; vit. E 20 mg; vit. B₁ 1.5 mg, vit. B₂ 7.5 mg, vit. B₆ 4.5 mg; vit. B₁₂ 30 µg; vit. K 3 mg; nicotic acid 45 mg; folic acid 0.8 mg; biotin 0.08 mg ; Choline chloride 450 mg; Premix minerals (per kg diet) Na 1.6 g; Mg 1.0 g; K 10.8 g; Fe 327.5 mg; Mn 80 mg; Zn 0.7 mg

Table 3: Test results of complete feed mixture in feeding and balance experiments with rabbits

Investigated parameters (n=30)	Experimental group with maize		
	1- transgenic MON88017 x MON 89034	2- DKC 5143 isogenic	3- reference LG 3475
Daily weight gain g/day	40.97	36.95	39.0
Feed conversion ratio in g /g	3.43	3.46	3.49
Feed intake g/day	129.6	128.6	130.6
Carcass yield in %	57.27	57.78	57.85
Coefficient of nutrients digestibility in % (n=5)			
Crude protein	65.74± 2.89 ^b	60.18± 2.49 ^{ac}	68.65± 3.37 ^b
Fat	86.88± 0.68 ^b	74.88± 0.67 ^{ac}	86.61± 2.48 ^b
Crude fibre	20.50± 2.15 ^c	20.88± 3.75	20.26± 2.73
Nitrogen-Free Extract	72.12± 1.88	66.26± 5.18	67.98± 3.69
Starch	91.20± 2.20	91.98± 1.57	90.43± 1.70
Organic matter	59.45± 1.98	54.62± 3.12	59.13±2.25

Differences between values in line marked by different letters (a,b,c,) are significant on level P<0.05

Table 4: Meat quality traits of *longissimus dorsi* muscle (MLD) of rabbits 24 h *post mortem*

Investigated parameters (g.100g ⁻¹ MLD)	Experimental group with maize ($\bar{x} \pm SD$)		
	1- transgenic MON88017 x MON 89034	2- DKC 5143 isogenic	3- reference LG 3475
Content of water	75.43 ± 0.67	75.5 ± 0.10	75.67 ± 0.06
Total proteins	22.17 ± 0.15	22.43 ± 0.15	22.7 ± 0.53
Content of fat	1.37 ± 0.65	0.93 ± 0.21	0.96 ± 0.06
Energetic value (kJ.100g ⁻¹)	422.79± 25.36	410.93 ± 9.55	416.64 ± 9.79
pH ₂₄	5.73 ± 0.29	5.53 ± 0.21	5.56 ± 0.03
Electrical conductivity (µS)	0.76 ± 0.19	0.85 ± 0.33	0.72 ± 0.19
Water holding capacity	33.39 ± 4.18	35.72 ± 4.74	35.35 ± 1.33

Table 5: Qualitative parameters in caecum

Parameters	Experimental group with maize ($\bar{x} \pm SD$)		
	1- transgenic MON88017 x MON 89034	2-DKC5143 isog- enic	3-reference LG 3475
pH	6.31	6.18	6.15
N-NH ₃ (mmol.l ⁻¹)	25.6	20.82	14.69 ^{AB}
Acetate (mmol.100g ⁻¹)	7.258 ^c	7.586	8.256
Propionate (mmol.100g ⁻¹)	0.590 ^c	0.670	0.714
Butyrate (mmol.100g ⁻¹)	1.423	1.949 ^a	1.927 ^a
Other VFA (mmol.100g ⁻¹)	0.311 ^{b,c}	0.267	0.253 ^a
Lactic acid (g.100g ⁻¹)	0.020	0.021	0.037 ^{ab}

Differences between values in line marked by different letters (a,b,c,) are significant on level P<0.05; Differences between values in line marked by different letters (A,B,C,) are significant on level P<0.01;

Conclusion

On the basis of our results we can summarize that genetically modified maize in rabbit nutrition did not influence negatively the health status of animals. Feeding of genetically modified MON 88017 x MON 89034 maize and isogenic maize DKC 5143 to rabbits had no negative influence on feed conversion, digestibility of nutrients, meat quality of the tested animals and biochemical parameters in caecum. It had no negative effect on growth performance of rabbits and influence of body weight as well.

References

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists
- Flachowsky G., Chesson A., Aulrich K. 2005. Animal nutrition with feeds from genetically modified plants. Review article. In: Arch. Animal Nutrition 59, 1, p.1-40
- Hašek O., Palanská O. 1976. Determination of water holding capacity in meat by instruments at constant pressure (in Slovak). In: Poultry Industry vol. 18, 1976, p. 228-233
- Chrastinová L., Chrenková M., Rafay J., Ondruška L., Sochová P., Formelová Z., Poláčiková M. 2006. Performance of growing – finishing rabbits fed diets containing Roundup Ready maize (EVENT NK 603). In: Biotechnology 2006, Scientific Pedagogical Publishing, Č. Budějovice, Czech Republic, ISBN 8085645-53-X, p. 213-216
- Chrenková M., Chrastinová L., 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, p. 178
- Křístková 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](http://www.mze.cz), e-mail: info@mze.cz
- Meartens L., Lebas F. 1989. Energy evaluation of rabbit feeds and feedstuffs. A critical approach. In: Cuni-Sciences, 5, 1989, p. 35-46
- Sommer A., Chrenková M., Chrastinová L., Čerešňáková Z., Petrikovič P. 2004. Bewertung des Nährwertes von RR und Bt Mais für die Tierernährung. In: 3.BOKU-Symposium Tierernährung, Fütterungsstrategien und Produktqualität. Wien 2004, p.160-165
- Wiseman J., Villamide M. J., De Blas C., Carabano M. J., Carabano R. M. 1992. Prediction of the digestible energy and digestibility of gross energy of feed for rabbits. 1. Individual classes of feeds. In: Anim. Feeds. Sci. Technol., 39, 1992, s. 27-38

Corresponding author

Ing. Mária Chrenková, CSc.
Animal Production Research Centre Nitra
Institute for Nutrition
Hlohovecká 2, 951 41, Lužianky, Slovakia
E-mail: chrenkova@cvzv.sk

Nutritional value of different genotypes of triticale

G. Svirmickas¹, S. Bliznikas¹, V. Kliseviciute², R. Gruzauskas², A. Raceviciute-Stupeliene², V. Buckiuniene², A. Dauksiene² and C. Relandeau³

¹ Lithuanian University of Health Sciences Institute of Animal Science of Veterinary Academy, Baisiogala, Radviliskis district., Lithuania

² Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy. Kaunas, Lithuania

³ Adisseo France SAS, Antony, France

Introduction

Genetically, **triticale** (*X Triticosecale Wittmack*) is an amphiploid species stably bearing the genomes of wheat (*Triticum* sp.) and rye (*Secale* sp.). By definition, the original or 'primary' triticales are the fertile, true-breeding progenies of an intergeneric hybridization, followed by chromosome doubling, between a seed parent from the genus *Triticum* and a pollen parent from the genus *Secale* (FAO, 2010). Regarding the yield, triticale potential, grown under optimal conditions, is approximately similar to wheat potential, and was much higher than wheat potential under unfavorable growing conditions (Brown and Graham, 1978).

Triticale contains some known and perhaps unknown anti-nutritional factors (ANFs). The main ANFs in triticale are arabinoxylans, β -glucans, pentosans and cellulose. All of these have been found in small amounts in triticale, but at levels much lower than in rye. With modern triticale, various ANFs, such as non-starch polysaccharides (pentosans) and protease inhibitors, while higher than in most other cereal grains, seem to have no effect on the growth performance of livestock consuming diets containing triticale grains (NRC, 1989; Emam, 2010). So far, no evidence exists for more than one adjacent (1 \rightarrow 3) linkage in the β -glucan chain (Izydorczyk and Dexter, 2008).

Triticale is normally intermediate in dietary fiber (DF) profile to its rye and wheat parents, with DF content ranging from 10-15% (Picolli da Silva and de Lourdes Santorio Ciocca, 2005; Pettersson and Åman, 1987). Arabinoxylan (AX) (\approx 7%) constitutes about half the total DF in triticale, while β -glucan (\approx 0.6%) is present in relatively smaller amounts (McGoverin et al., 2011).

Modern triticale is higher than maize in protein and essential amino acids, in particular lysine, which is usually the most limiting essential amino acid in typical pig and poultry diets (Van Barnavelde and Cooper, 2002). The levels of lysine and threonine are 10-25% higher than that for wheat grains, so the feed value of triticale protein is higher (Haydon and Hobbs, 1991). The higher concentrations of limiting essential amino acids, in particular lysine and threonine, permit less use of a supplemental protein source, such as soybean meal, when using triticale as opposed to maize in formulating diets for pigs and poultry. It should be pointed out, however, that much variation exists in the protein and amino acid concentrations of triticale. Protein and lysine concentrations of 9 to 18 percent and 0.33 to 0.71 percent, respectively, have been reported in the literature (Pettersson and Aman, 1987; Radecki and Miller, 1990; Heger and Eggum, 1991; Leterme et al., 1991; Varughese et al., 1996).

Nutritional value of triticale depends on many factors such as genotype, conditions of climate and fertilization. Data regarding nutritional value of triticale and triticale use in poultry nutrition is contradictory. The results of our analysis established that the use of triticale up to 15% in poultry nutrition process has no significant influence on broiler chicken productivity (Kliseviciute et al., 2011). According to the other authors, use of triticale in poultry nutrition may take even up to 75% (Zarghi et al., 2010).

The aim of the analysis is to determine the nutritional value of triticale.

Materials and methods

Clean and uncontaminated samples of eleven cultivars of triticale (*X Triticosecale Wittmack*) (*SW Falmoro, SW Talentro, Cultivo, Grenado, Tulus, Lego, Agostino, Remiko, Preludio, Cosinus, Leontino*) were taken for nutritional value analyses. All cultivars were grown in Kaunas Research Station of Plant Sorts (Muniskiu village, Lithuania) in 2011. The fertilization of triticale was NPK 12-32-49, additional - N 34+N 51. The total amount of crude fiber and separate fractions (NDF – neutral detergent fiber; ADF – acid detergent fiber and ADL – acid detergent lignin), β -glucans, phenolic compounds, amino acids, fatty acids, pentosans were determined.

Methods of the analysis. 11 different genotypes of triticale, with their growth conditions known were analysed by the methods: amino acids – by NIRS methods (11 amino acids); phenolic acids – by HPLC methods (Vanillic acid, p-coumaric acid, Ferulic acid, Sinapic acid, p-hydroxybenzencarboxylic acid); fatty acids (PUFA, MUFA, SFA) was determined by gas chromatograph Shimadzu GC-2010 with hydrogen flame detector, after extraction according to Folch et al. (1957) and methylation according to Christopherson S. W. and Glass R. L. (1969). Lipid quality indices, i.e., atherogenicity index (AI) and thrombogenicity index (TI), were calculated according to Ulbricht and Southgate (1991).

$$AI = [C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0] / [n-6 \text{ PUFA} + n-3 \text{ PUFA} + \text{MUFA}];$$

$$TI = [C14:0 + C16:0 + C18:0] / [(0.5 \times \text{MUFA}) + (0.5 \times n-6 \text{ PUFA}) + (3 \times n-3 \text{ PUFA}) + n-3/n-6 \text{ PUFA}].$$

Crude fiber was determined as residues of acids-insoluble and alkali-insoluble not nitrogenous matter. NDF, ADF and ADL in triticale was carried out using Filter Bag Technique ANKOM200 Fiber Analyzer (Ankom Technology, Macedon, USA); β -glucans – by McCleary method; pentosans – was hydrolyzed with 4.15 N hydrochloric acid till furfural and it distilled. The color reaction with aniline acetate was done. Absorption carried out at 530 nm. using Cerning J. and Giulbot A. (1973) method.

Statistical Analyses. One way ANOVA was used to evaluate country and year harvest effects. Means were compared with a PLSD Fisher's test.

Results

By analyzing the composition of amino acids (Table 1) in the Lithuanian grown triticale cultivars there were observed, that the highest amount of total lysine was in the cultivars of *Lego* and *Cultivo* (0.37%), lowest – in *Cosinus* (0.33%). *Lego* had the highest amount of digestible lysine – 0.30%, and the lowest amount had the triticale cultivar of *Cosinus* (0.26%). The highest amount of total methionine was in the triticale cultivar of *Preludio* (0.18%), the lowest – in *SW Talentro, Grenado* and *Tulus* (0.16%). The highest amount of digestible methionine was determined in triticale cultivar of *Cosinus* (0.17%), and the lowest in *Grenado* (0.14%). The lowest amount of total threonine was determined in the triticale cultivars of *Cosinus, Leontino, Agostino, Tulus, Cultivo* and *SW Talentro* (0.29%), and the highest amount of that amino acid was in cultivar of *Lego* (0.31%). The highest amount of digestible threonine had the triticale cultivar of *Lego* (0.25%), the lowest – *Cosinus* (0.23%).

The Vanillic acid content of triticale cultivars grown in Lithuania an average was 3.91 mg/kg (min 2.96 mg/kg, max 5.46 mg/kg). The highest content of Vanillic acid was determined in triticale cultivars of *Lego* (5.46 mg/kg), *Preludio* (4.41 mg/kg) and *Cultivo* (4.24 mg/kg), whereas the lowest was in *Tulus* (2.96 mg/kg) and *Cosinus* (3.19 mg/kg).

Table 1: Total amount and digestibility of amino acids in different triticale genotypes

Total of Samples = 11	Amino Acids (%)	Lys	Met	Cys	Thr	Trp	Val	Ile	Leu	Phe	His	Arg
Total Amino Acids	Average	0.36	0.17	0.24	0.30	0.13	0.45	0.36	0.53	0.39	0.22	0.52
	Minimum	0.33	0.16	0.22	0.29	0.11	0.42	0.33	0.42	0.34	0.19	0.46
	Maximum	0.37	0.18	0.25	0.32	0.14	0.48	0.38	0.79	0.45	0.24	0.58
	Std Deviation	0.01 1	0.00 5	0.01 0	0.00 9	0.00 7	0.01 5	0.01 3	0.093 3	0.03 2	0.01 3	0.03 2
	Coefficient of Variation (%)	3.03 1	2.98 6	4.35 9	2.97 0	5.67 0	3.32 6	3.69 9	17.57 5	8.35 5	5.98 0	6.15 3
Digestible Amino Acids for poultry	Average	0.29	0.15	0.20	0.24	0.11	0.37	0.32	0.49	0.36	0.19	0.47
	Minimum	0.26	0.14	0.18	0.23	0.10	0.34	0.30	0.38	0.31	0.17	0.41
	Maximum	0.30	0.16	0.21	0.26	0.12	0.41	0.35	0.72	0.42	0.21	0.52
	Std Deviation	0.01 0	0.00 5	0.00 9	0.00 8	0.00 7	0.01 5	0.01 3	0.084 1	0.03 1	0.01 1	0.03 1
	Coefficient of Variation (%)	3.46 5	3.31 9	4.64 4	3.27 1	6.59 9	3.91 3	3.89 6	17.27 5	8.65 1	6.11 8	6.59 3

Table 2: Amount of fatty acids in different triticale genotypes (% of total fatty acids)

Variable	SFA	MUFA	PUFA	n-6	n-3	PUFA/SFA	n-6/n-3	AI	TI
Average	17.68	14.68	67.56	61.94	5.62	3.82	11.02	0.2	0.31
±	0.49	2.08	1.8	1.976	0.378	0.099	0.89	0.008	0.014

The amount of p-coumaric acid in the analyzed triticale an average was 8.56 mg/kg (min 5.13 mg/kg, max 20.61 mg/kg). The highest content of mention phenolic acid was determined in triticale cultivars of *Lego* (20.61 mg/kg), *Tulus* (10.38 mg/kg) and *Grenado* (9.25 mg/kg), whereas *Cosinus* (5.13 mg/kg), *Preludio* (5.21 mg/kg), *SW Talentro* (5.36 mg/kg) had lower amount of p-coumaric acid.

Ferulic acid in triticale cereals are predominated between phenolic acids. Analyzed triticale cultivars an average had 458.69 mg/kg (min 397.57 mg/kg, max 626.13 mg/kg) Ferulic acid. The highest amount of Ferulic acid was determined in the cultivars of *Lego*, *Remiko* and *Preludio* and compound 626.13 mg/kg, 492.53 mg/kg and 491.00 mg/kg, respectively in comparison with others cultivars of triticale. While in *Cosinus* and *SW Talentro* was correspondingly less 397.57 mg/kg and 397.85 mg/kg in comparison with others cultivars of triticale.

Sinapic acid content of triticale varieties grown in Lithuania an average was 76.54 mg/kg (min 33.75 mg/kg, max 108.56 mg/kg). The highest amount of this acid was determined in triticale cultivars of *Lego* (108.56 mg/kg), *Tulus* (104.30 mg/kg) and *Cultivo* (101,16 mg/kg), while in *Remiko* (33.75 mg/kg), *SW Talentro* (62.43 mg/kg) and *Preludio* (67.81 mg/kg) the amount of Sinapic acid was lower.

p-hydroxybenzencarboxylic acid of triticale varieties an average was 3.60 mg/kg (min 1.85 mg/kg, max 10.35 mg/kg). The highest amount of p-hydroxybenzencarboxylic acid was determined in triticale cultivars of *Lego* (10.35 mg/kg), *Preludio* (3.81mg/kg) and *Cosinus* (3.45 mg/kg), whereas *Leontino* (1.85 mg/kg) and *Agostino* (1.89 mg/kg) had the lowest amount.

By analyzing the composition of dietary fiber in the Lithuanian grown triticale cultivars there were observed, that it an average compound by 1.81% (min 1.51%, max 2.92%). The highest amount was determined in triticale cultivars of *Lego* (2.92%) and *Agostino* (1.91%), while the lowest amount was in *Leontino* (1.51%) and *Tulus* (1.55%). The lowest amount of ADL was determined in cultivar of *Tulus* (0.53%), the highest – *Lego* (1.35%). The amount of ADL in triticale an average compound 0.88%. The lowest content of ADF was determined in triticale cultivar of *Preludio* (2.92%) and the highest – in cultivar of *Lego*, e.g. 5.49%. In the others cultivars of triticale the content of ADF varied from 3.02% till 3.50% (average 3.45%). The highest amount of NDF was determined in triticale variety of *Lego* (17.27%), while the lowest one had *Leontino* (10.00%). In the others varieties of triticale the content of NDF varied from 10.05% till 12.19% (average 11.67%). The analogical results get Rakha A. et al. (2011), who determined in triticale 12.50% of NDF and 3.1-3.4% ADF.

The amount of monounsaturated fatty acid (MUFA) (Table 2) in analyzed cultivars of triticale an average compound 14.68%. The amount of polyunsaturated fatty acid (PUFA) was quite high – 67.56%, so its qualitative ratio with saturated fatty acids (SFA) is high – 3.82%. In triticale the ratio of n-6 and n-3 is 11.02%. Lipid quality indices, i.e., atherogenic index (AI) and thrombogenicity index (TI) in analyzed cultivars of triticale were not high.

By analyzing the composition of antinutritional factors (β -glucans and pentosans) in the Lithuanian grown triticale cultivars there were observed, that the amount of β -glucans was from 0.33% dry matter (DM) till 0.57% DM (average 0.44% DM). The highest amount of β -glucans was determined in triticale cultivars of *Lego* (0.57% DM), *Agostino* (0.49% DM) and *Remiko* (0.47% DM), while in *Leontino* (0.33% DM) and *SW Talentro* (0.36% DM) the amount of β -glucans was the lowest.

The amount of pentosans was from 4.58% dry matter (DM) till 7.52% DM (average 5.44% DM). The highest amount of pentosans was determined in triticale cultivars of *Lego* (7.52% DM), *Agostino* (6.29% DM), while in *Grenado* and *Tulus* (4.58% DM) and *Leontino* (4.77% DM) the amount of pentosans was the lowest.

Discussion

Triticale is a grain that competes with other species in terms of lower soil requirements and high yielding potential and nutritive value, which are comparable to wheat. Triticale, however, was not a popular component of mixtures for broiler chickens because it has the most changeable chemical composition of all grains and contains antinutritional factors (Pourreza et al., 2007).

The concentrations of β -glucans ranged from 0.33% till 0.57% in analyzed triticale genotypes and were analogous to the ones found in scientific literature by McGoverin et al. (2011), which reported 0.57 % of β -glucans in there analyzed triticale genotypes. Content of β -glucans in different cereals varies and is about 0.4% in triticale (Henry, 1985) and up to about 10% in barley (Izydorczyk, 2010).

Other researchers reported the higher concentrations of β -glucans. Rakha et al. (2011) indicated an average 0.7% of β -glucans, while Salmon with other scientists reported 0.50-0.81% of β -glucans. Józefiak et al. (2007) reported 1.4% total β -glucans in the triticale, which is higher than the maximum values observed in this study. The discrepancies in molecular weight of β -glucan in cereals may originate from varietal and environmental factors (Ajithkumar et al., 2005). Similar to content and extractability, huge diversity in molecular weight of β -glucan in different cereals has been observed. In general, molecular weight of β -glucan in cereals follows the trend oats > barley > rye > wheat (Cui and Wang, 2009). With modern triticale, various anti-nutritional factors, such as non-starch polysaccharides (pentosans) and protease inhibitors, while higher than in most other cereal grains, seem to have no effect on the growth performance of livestock consuming diets containing triticale grain (NRC, 1989; Batterham et al., 1990; Radecki and Miller, 1990; Boros and Rakowska, 1991; Boros, 2002; Myer, 2002; Van Barneveld and Cooper, 2002)

The concentration of pentosans ranged average 5.44% in analyzed triticale genotypes, lowers results was obtain by Salmon et al. (2002), which reported average 4.31 % of pentosans in there analyzed triticale genotypes.

The digestibility of protein and amino acids in triticale grain has been found to be quite good, being similar to or even slightly better than that observed for maize or wheat (Coffey and Gerrits, 1988; Myer et al., 1989; Radecki and Miller, 1990; Hill, 1991; Van Barneveld, 2002)

Lysine is a limiting amino acid in cereal grains (Kies and Fox, 1970; Villegas et al., 1970), but some triticale genotypes were found to have lysine levels much higher than in wheat or rye (Stallknecht et al., 1996). Regarding the content of lysine, triticale is much better than wheat. The content of amino acids of triticale cultivars in our investigation (total lysine average 0.36 percent, total methionine average 0.17%, total threonine average 0.30% was similar to those obtained by data of Sullivan et al. (2007), which in their investigations get 0.37% lysine, 0.18% methionine and 0.32% threonine. The average of base digestibility amino acids was such: 0.29% lysine, 0.15% methionine and 0.24% threonine.

The functional food market is growing; hence alternative sources of bioactive compounds have been investigated. A variety of phenolics, proanthocyanidins, condensed tannins, catechins and lignans are present in cereals. Triticale bran, straw, leaves and flakes, alongside wheat, rye and oat bran, have been assessed as a source of proanthocyanidins, lignans and phenolic acids (Hosseinian, Mazza, 2009). The phenolic acid content ranged from 65.2 to 252.5mg 100 g⁻¹, ferulic acid predominated and 89–98% of phenolic acids were present in a bound form. However in our analyzed triticale cultivars the amount of Vanillic acid was by 3.91 mg/kg, p-coumaric acid – 8.56 mg/kg, Ferulic acid – 458.69 mg/kg, Sinapic acid – 76.54 mg/kg, p-hydroxybenzencarboxylic acid – 3.60 mg/kg.

Acknowledgement

Financing by the ministry of Agriculture of the Republic of Lithuania project MT 11/30.

References

- Ajithkumar A., Andersson R. and Åman P. (2005): Content and molecular weight of extractable β -glucan in American and Swedish oat samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(4): 1205-1209
- Batterham E.S., Saini H.S. and Baigent D.R. (1990): The effect of rate of feeding on the nutritional value of three triticale cultivars for growing pigs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 27: 317
- Boros D. (2002): Physico-chemical indicators suitable in selection of triticale for high nutritive value. In E. Arseniuk, ed. *Proc. 5th Int. Triticale Symp., Radzikow, Poland, 30 June-5 July 2002*, 1, 239. Radzikow, Poland, Plant Breeding and Acclimatization Institute
- Boros D. and Rakowska M. (1991): Chemical and biological evaluation of triticale cultivars released in Poland. In *Proc. 2nd Int. Triticale Symp.*, p. 253. Mexico, DF, CIMMYT
- Brown J.C., Graham J.H. (1978): Requirements and tolerance to elements by alfalfa. *Agron. J.* 70: 367-373
- Cerning J., Guilbot A. (1973): A specific method for determination of pentosans in cereals and cereal products. *American Association of cereal chemists*, 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, Minnesota 55121, 50: 176-184
- Christopherson S. W., and R. L. Glass. (1969): Preparation of milk fat methylesters by alcoholysis in an essentially nonalcoholic solution. *J. Dairy Sci.* 52: 1289-1290
- Coffey M. T. and Gerrits W. J. (1988): Digestibility and Feeding Value of B858. Triticale for Swine. *J Anim Sci.* 66: 2728–2735
- Cui S.W. and Wang Q. (2009): Cell wall polysaccharides in cereals: Chemical structures and functional properties. *Structural Chemistry*. 20(2): 291-297
- Emam R. M. S. (2010): A study of substituting yellow corn by triticale grains on productive performance of two broiler strains. Ph.D. Thesis, Fac. Agric., Fayoum University, Egypt

- Folch J., Less M., Sloane-Stanley G. H. (1957): A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226. 497-509
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO (2010): <http://faostat.fao.org/>
- Haydon K. D. and Hobbs S. E. (1991): Nutrient digestibilities of soft winter wheat, improved triticale cultivars, and pearl millet for finishing pigs. *J Anim Sci*. 69: 719-725
- Heger J and Eggum B.O. (1991): The nutritional values of some high-yielding cultivars of triticale. *J Cereal Sci*. 14: 63-71
- Henry R.J. (1985): A comparison of the non-starch carbohydrates in cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 36(12): 1243-1253
- Hill G.M. (1991): Triticale in animal nutrition. In *Proc. 2nd Int. Triticale Symp.*, 422. Mexico, DF, CIMMYT
- Hosseinian F.S. and Mazza G. (2009): Triticale bran and straw: potential new sources of phenolic acids, proanthocyanidins, and lignans. *J Funct Foods*. 1:57-64
- Izydorczyk M.S. and Dexter J.E. (2008): Barley β -glucans and arabinoxylans: Molecular structure, physicochemical properties, and uses in food products—a review. *Food Research International*. 41(9): 850-868
- Izydorczyk M.S. (2010): Variations in content and molecular structure of barley nonstarch polysaccharides associated with genotypic and cellular origin. *Cereal Chemistry*. 87(4): 376-384
- Józefiak D., Rutkowski A., Jensen B.B. and Engberg R.M. (2007): Effects of dietary inclusion of triticale, rye and wheat and xylanase supplementation on growth performance of broiler chickens and fermentation in the gastrointestinal tract. *Animal Feed Science and Technology*. 132(1-2): 79-93
- Kies C. And Fox H.M. (1970): Protein nutritive value of wheat and triticale grain for humans, studied at two levels of protein intake. *Cereal Chem*. 47:671-678
- Kliseviciute V., Gruzauskas R., Raceviciute-Stupelienė A., Dauksiene A., Buckiunienė V., Bliznikas S. (2011): Report of the trial of triticale use in the broiler chickens diet. Kaunas. P. 16
- Leterme P., Thewis A. and Tahon F. (1991): Nutritive value of triticale in pigs as a function of its chemical composition. In *Proc. 2nd Int. Triticale Symp.*, p. 442. Mexico, DF, CIMMYT
- McGoverin C.M., Snyders F., Muller N., Botes W., Fox G. and Manley M. (2011): A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. *J Sci Food Agric*. 91: 1155-1165
- Myer R.O., Barnett R.D., Cornell J.A. and Combs G.E. (1989): Nutritive value of diets containing triticale and varying mixtures of triticale and maize for growing-finishing swine. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 22: 217
- Myer, R.O. (2002): Triticale grain in young pig diets. In E. Arseniuk, ed. *Proc. 5th Int. Triticale Symp.*, Radzikow, Poland, 30 June-5 July 2002, Vol. I, p. 272. Radzikow, Poland, Plant Breeding and Acclimatization Institute
- National Research Council, NRC Triticale: a promising addition to the world's cereal grains. (1989). Washington, DC, USA, National Academy Press
- Pettersson D. and Aman P. (1987): The variation in chemical composition of triticales grown in Sweden. *Acta. Agric. Scand.*, 37: 20
- Picolli da Silva L. and Santorio Ciocca M.L. (2005): Total, insoluble and soluble dietary fiber measured by enzymatic-gravimetric method in cereal grains. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18: 113-120
- Pourreza J., Samie A.H., Rowghani E. (2007): Effect of supplemental enzyme on nutrient digestibility and performance of broiler chicks fed on diet containing triticale. *Int. J. Poultry Sci*. 6 (2): 115-117
- Radecki, S.V. and Miller, E.R. (1990): Triticale. In P.A. Thacker & R.N. Kirkwood, eds. *Nontraditional feed sources for use in swine production*, p. 493. Stoneham, MA, USA, Butterworth Publishers
- Rakha A., Åman P. and Andersson R. (2011): Dietary fiber in triticale grain: Variation in content, composition, and molecular weight distribution of extractable components. *Journal of Cereal Science*. 54:324-331
- Salmon D., Temelli F. and Spence S. (2002): Chemical composition of Western Canadian triticale varieties. *Proc. of the 5th International Triticale Symposium*. June 30-July 5, Radzikow, Poland. 2: 445-450
- Stallknecht G.F., Gilbertson K.M. and Ranney J.E. (1996): Alternative wheat cereals as foodgrains: einkorn, emmer, spelt, kamut, and triticale, in *Progress in New Crops: Proceedings of the Third National Symposium*, ed. by Janick J. ASHA Press, Alexandria, p. 156-170
- Sullivan Z.M., Honeyman M.S., Gibson L.R. and Prusa K.J. (2007): Effects of triticale-based diets on finishing pig performance and pork quality in deep-bedded hoop barns. *Meat Science*. 76: 428-437

Ulbricht T. L. V., Southgate D. A. T. (1991): Coronary disease seven dietary factors. *Lancet*. 338: 117-992

Van Barneveld R.J. and Cooper K.V. (2002): Nutritional quality of triticale for pigs and poultry. In E. Arseniuk, ed. Proc. 5th Int. Triticale Symp., Radzikow, Poland, 30 June-5 July 2002, Vol. I, p. 277. Radzikow, Poland, Plant Breeding and Acclimatization Institute

Varughese G, Pfeiffer W.H. and Pena R.J. (1996): Triticale: a successful alternative crop. 1. *Cereal FoodsWorld* 41:474-482

Villegas E., McDonald C.E. and Gilles K.A. (1970): Variability in the lysine content of wheat, rye and triticale protein. *Cereal Chem.* 47: 746-757

Wood P.J. (2001): Cereal β -glucans: Structure, properties and health claims. In: McCleary B.V. Prosky L. (Eds.). *Advanced Dietary Fibre Technology*. Blaskwell Science Ltd., Oxford, UK

Zarghi H., Golian A., Kermanshahi H., Raji A.R. and Heravi A.R. (2010): The effects of Triticale and Enzyme in Finisher Diet on Performance, Gut Morphology and Blood Chemistry of Broiler Chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9(17): 2305-2314

Corresponding author

Romas Gruzauskas
Lithuanian University of Health Sciences
Veterinary Academy
Kaunas, Lithuania
E-Mail: gruzauskas@lva.lt



Food for FEET.™



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.



PERFORMANCE MINERALS®



RETURN • RESPONSE • REPEATABILITY • RESEARCH • REASSURANCE

Untersuchung zur Silierung von Pressschnitzeln in Praxisbetrieben - Erhebung von Temperaturverlauf, Lagerungsdichte sowie Bestimmung der aeroben Stabilität

Markus Schoch¹, Christian Koch², Franz-Josef Romberg¹, Christine Potthast³ und Georg Dusel⁴

¹ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Westpfalz, Münchweiler an der Alsenz

² Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung, Hofgut Neumühle, Münchweiler an der Alsenz

³ Südzucker AG Mannheim/Ochsenfurt, Ochsenfurt

⁴ Fachhochschule-Bingen, Bingen

Fragestellung

Seit 2010 werden in einigen deutschen Regionen Pressschnitzel (PSS) mit hohen Trockenmassegehalten von > 28 % vermarktet. Bei Pressschnitzelsilagen ist bekannt, dass hohe TM-Gehalte die Verdichtung erschweren und schließlich zu Problemen während des Silierprozesses führen können. In der Praxis sowie der praxisangewandten Forschung liegen vorwiegend Untersuchungen zur Siliereignung von Pressschnitzeln mit TM-Gehalten unter 25 % vor (Steinhöfel et al., 1998; Steinhöfel und Weber, 2006), wohingegen nur wenige Untersuchungen zur Silierung von Pressschnitzeln mit höheren TM-Gehalten verfügbar sind (Weber, 2005).

Im Rahmen der vorliegenden Praxisbeobachtungen sollte überprüft werden, inwieweit die hohen TM-Gehalte die Verdichtung und schließlich auch den Silierprozess beeinflussen. Dazu wurde die Einhaltung der Silierempfehlungen in Praxisbetrieben überprüft und Dichtemessungen der Pressschnitzelsilagen im Fahrsilo und im Folienschlauch durchgeführt. Weiterhin wurden die Silagetemperatur (Temperaturverlauf über die Silierdauer sowie Temperatur an den Anschnittflächen) und der pH-Wert der Anschnittflächen erfasst, eine Bonitur der Beschaffenheit der Anschnittflächen vorgenommen und die aerobe Stabilität (ASTA) ermittelt.

Material und Methoden

Zur Überprüfung des Silierverhaltens von Pressschnitzeln wurden in Rheinland-Pfalz im Zeitraum Oktober 2010 bis August 2011 Daten erhoben (5 Siloschläuche und 14 Fahrsilokammern in 16 Praxisbetrieben sowie der Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung, Hofgut Neumühle). Auf dem Hofgut Neumühle (Folienschlauch mit 2,00 m Durchmesser und Fahrsilo) wurden Messungen zum Temperaturverlauf vorgenommen. Die Aufzeichnung dieser Temperaturverläufe erfolgte mit Hilfe von Messsonden der Firma Testo, welche die Messwerte stündlich über einen Zeitraum von 225 Tagen aufzeichneten. Im Fahrsilo kamen zwei Temperaturmesssonden zum Einsatz. Eine Messsonde wurde 1,10 m unter der Folie positioniert, um den Verlauf der Kerntemperatur dokumentieren zu können. Die zweite Messsonde befand sich 0,30 m unter der Folie, um den Verlauf im oberen Randbereich zu bestimmen. Im Folienschlauch wurden 3 Messsonden eingesetzt und zwar 2,00 m vor dem Schlauchende, sowie 1,00 m unter der Folie in der Schlauchmitte und 0,30 m unterhalb der Folie im Randbereich.

Auf den Praxisbetrieben wurden Informationen zu Silierdauer, Vorschub, Silogröße erhoben und eine visuelle Beurteilung der Pressschnitzelsilage nach den Kriterien „Zustand der Anschnittfläche“, „sichtbare Futterreste am Silo“ und „Nacherwärmung“ vorgenommen.

Die Bestimmung der aeroben Stabilität (ASTA) erfolgte im Folienschlauch und Fahrsilo nach der gleichen Methode, nach dem System „Völkenrode“ (Honig, 1990) im Labor der FH Bingen. Nach der täglichen Futterentnahme wurde eine Mischprobe der PSS 0,30 m unterhalb der Oberfläche und 0,30 m oberhalb des Bodens entnommen („Anschnitt“). Die Probenahme wurde in gleicher Weise nach Entnahme von 2,00 m Siliergut wiederholt. Um den Einfluss von Luftstress an der Anschnittfläche auszuschalten (Zur Erfassung des Einflusses unterschiedlicher Umgebungstemperaturen (<20 °C und > 30 °C)), wurden die Messungen nach zwei Wochen wiederholt. Die Frischmasse- und Trockenmaselagerungsdichten wurden in allen Silagen mit Hilfe eines elektromotorbetriebenen Spezialbohrstabes aus dem Institut für Landtechnik der Universität Bonn bestimmt. Dieser Bohrstab (50 cm Bohrtiefe und 10 cm Rohrdurchmesser) erlaubt die Entnahme von 3900 ml Probenmaterial. Zur Ermittlung des TM-Gehaltes wurden je 200 g PSS bei 105 °C über 24 Stunden im Trockenschrank des Hofgutes Neumühle getrocknet. Eine Übersicht der erhobenen Parameter ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1: Übersicht der Untersuchungen

	LVAV Hofgut Neumühle	Praxisbetriebe
Temperaturverlauf	X	
Aerobe Stabilität (ASTA)	X	
Lagerungsdichte	X	X
Visuelle Beurteilung der Silage	X	X

Ergebnisse

Insgesamt wurden 16 Betriebe mit 19 Silagen beprobt. Die Entnahme der PSS erfolgte in drei Betrieben mittels Selbstfahrer und Entnahmefräse. Dies hat den Vorteil, dass die täglich zu verfütternde Menge über die gesamte Anschnittfläche entnommen werden kann, was zu einer festen, nicht aufgelockerten Anschnittfläche führt. Drei weitere Betriebe nutzen den Hofschlepper mit Entnahmeschaufel, zwei einen gezogenen Futtermischwagen mit angebautem Entnahmeschild und die übrigen acht Betriebe ihren Frontladerschlepper mit Greifschaukel als Entnahmetechnik. Der überwiegende Teil der Betriebe unterschreitet die allgemein empfohlene Mindestsilierdauer von 6 Wochen (siehe Abbildung 1). Ein Betrieb verschloss das Silo überhaupt nicht und verfütterte die PSS unmittelbar nach Silobefüllung.

Der notwendige Entnahmevorschub von 0,40 m-0,50 m pro Tag im Winter bzw. 0,80-1,00 m pro Tag im Sommer wurde in den Praxisbetrieben erheblich unterschritten. Die Betriebe realisierten einen täglichen Vorschub zwischen 0,05 und 0,60 m, was bei hohen Außentemperatur und geringer Verdichtung zu Problemen wie Nacherwärmung führen kann.

In den Betrieben war bei den Fahrsilos der überwiegende Teil der Anschnittflächen glatt, während die Schlauchsilagen einen hohen Anteil aufgelockerter und brüchiger Anschnitte aufwiesen (Tabelle 2). Von den 19 beurteilten Silagen war nur eine nacherwärmt. Futterreste am Silo fanden sich bei lediglich 3 der 19 Silagen.

Der mittlere TM-Gehalt der Pressschnitzelsilagen lag bei 31,8 %. Die mittlere Verdichtung der Frischmasse (FM) bei 873 kg/m³ und die der Trockenmasse bei 277 kg/m³. Trotz des hohen TM-Gehaltes der PSS konnte eine sehr gute TM-Verdichtung erreicht werden. Die ermittelten Verdichtungen im Vergleich zwischen Fahrsilo und Folienschlauch sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

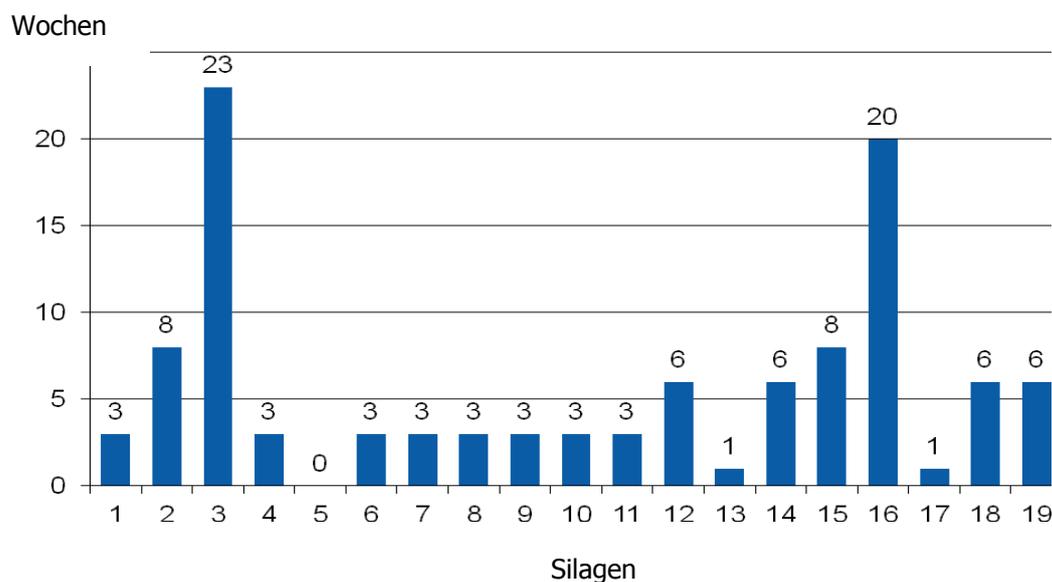


Abbildung 1: Silierdauer in Wochen bis zur Siloöffnung

Tabelle 2: Zustand der Anschnittfläche in Schlauch- und Fahrsilos (n = 5 bzw. n = 14)

Anschnittfläche	Schlauchsilo	Fahrsilo
glatt	1	11
aufgelockert	2	3
brüchig	2	0

Tabelle 3: Vergleich der Verdichtung im Fahrsilo und im Folienschlauch

Merkmal	Einheit	Gesamt	Fahrsilo	Folienschlauch
Anzahl	n	180	140	40
Dichte FM	kg/m ³	873	898	786**
Dichte TM	kg/m ³	277	286	248**
TM	%	31,8	31,8	31,6

Signifikante Unterschiede zwischen Fahrsilo und Folienschlauch: *:p<0,05; **: p<0,01

Die ermittelten FM- sowie TM-Verdichtungen lagen auf einem sehr hohen Niveau, was eine sehr hohe Verdichtung in den Betrieben widerspiegelt. Im Folienschlauch lagen die Werte sogar noch über denen, die Weber (2005) für Pressschnitzel mit > 25 % TM ermittelte. Allerdings liegen die Verdichtungen im Folienschlauch signifikant unter denen im Fahrsilo und erreichen im Mittel nur rund 90 % der dort erzielten Werte.

Die am Hofgut Neumühle gemessenen mittleren Abkühlungsraten nach 14 bzw. 49 Tagen sind der Tabelle 4 zu entnehmen. Die Temperaturverläufe im Folienschlauch und im Fahrsilo sind in den Abbildungen 2 und 3 dargestellt.

Tabelle 4: Mittlere Abkühlungsraten nach 14 bzw. 49 Tagen Silierdauer (°C/d)

Position	14 Tage	49 Tage
Fahrsilo Kern	-0,01	0,22
Folienschlauch Kern	1,53	0,65
Fahrsilo Rand	0,30	0,35
Folienschlauch Rand	1,53	0,65

Um einen Pektinabbau und dadurch einen Strukturverlust zu vermeiden, sollte die Temperatur in Pressschnitzelsilagen täglich um ca. 0,5 °C absinken (Pahlow und Honig, 1982). Diese empfohlene Abkühlungsrate wurde im Fahrsilo nicht erreicht. Im Folienschlauch lagen hingegen sowohl im Kern als auch am Rand die Abkühlungsraten nach 49 Tagen bei 0,65 °C/Tag.

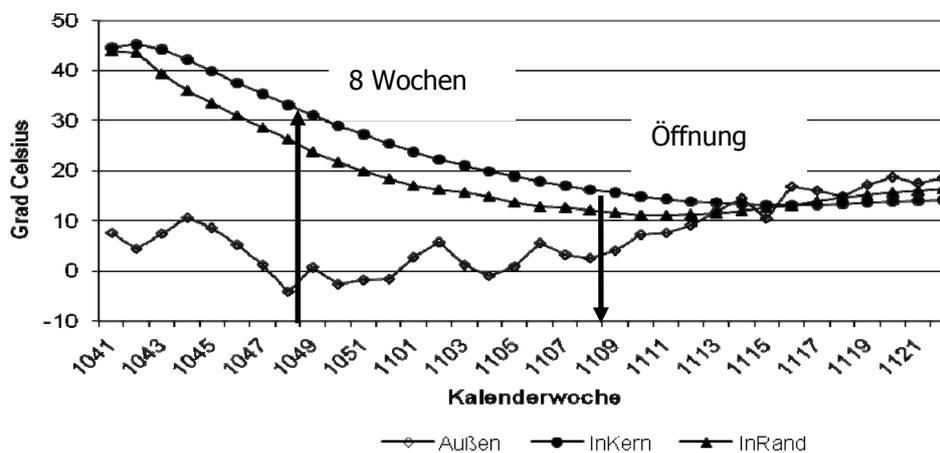


Abbildung 2: Temperaturverlauf im Fahrsilo

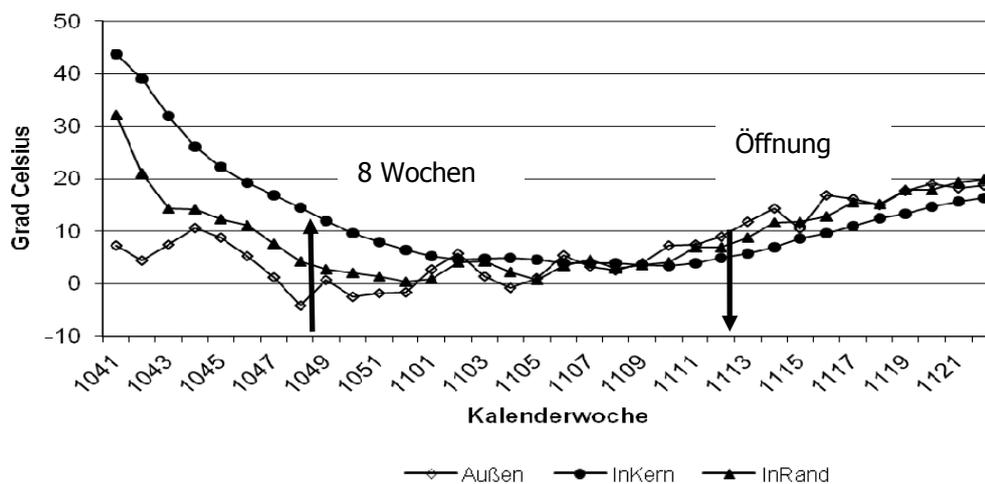


Abbildung 3: Temperaturverlauf im Folienschlauch

Im Folienschlauch sank die Temperatur aufgrund der größeren Oberfläche bereits ab dem Silierzeitpunkt. Im Fahrsilo stieg die Temperatur kurzfristig an und sank dann nur sehr langsam über die Silierdauer im Vergleich zum Folienschlauch ab. Nach dem Öffnen des Folienschlauches stieg die Temperatur merklich schneller an als im Fahrsilo. Nach 12-13 Wochen lagen die Kern- und Außentemperatur im Folienschlauch auf etwa gleichem Niveau. Im Fahrsilo dauerte diese Annäherung mehr als 23 Wochen. Bei Interpretation der Abkühlungsraten muss immer die Umgebungstemperatur berücksichtigt werden. Die sehr langsame Abkühlungsrate im Fahrsilo deutet auf eine sehr hohe Verdichtung und resultierend daraus auf einen ausgeprägten Hitzestau hin, was auch visuell an der gelben Farbe der PSS im unteren Bereich des Fahrsilos zu erkennen war. Der so genannte Hitzestau hat keinen Effekt auf den Futterwert, kann aber zu einem Pektinabbau und somit zu einem Strukturverlust der Pressschnitzelsilage führen.

Die aerobe Stabilität bewegte sich im Fahrsilo sowie im Folienschlauch auf vergleichbarem Niveau. Auch die unterschiedlichen Außentemperaturen von $< 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ und $> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ blieben hier ohne wesentlichen Einfluss (vgl. Tabelle 5). In der Tendenz war die ASTA am Fahrsilo gegenüber dem Schlauchsilo leicht verbessert, was mit der Verdichtung einhergeht. Insgesamt lag die aerobe Stabilität bei den untersuchten Silagen auf relativ hohem Niveau, was sich in ASTA-Daten bis zu 7 Tagen zeigt. So hohe Werte konnten in Pressschnitzelsilage teilweise nur unter Zusatz von chemischen Siliermitteln erreicht werden (Potthast et al. 2010; Weber, 2005).

Tabelle 5: Aerobe Stabilität in Tagen bei Außentemperaturen von $< 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bzw. $> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$

	Anschnittfläche		2 m hinter Anschnittfläche	
	$< 20\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$	$< 20\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$
Schlauch oben	3	3	4	4
Fahrsilo oben	4	3	4	6
Schlauch unten	5	4	5	6
Fahrsilo unten	6	5	6	7

Diskussion und Fazit

Die Ergebnisse und die Beobachtungen an den Praxissilagen bestätigen, dass auch Pressschnitzel mit einem hohen TM-Gehalt $> 28\%$ bei sehr guter Verdichtung aerob stabil einsiliert werden können. Die Qualität der beobachteten Silagen und das Silomanagement der Betriebe war sehr gut und zeigte sich u.a. auch im überwiegend festen Zustand der Anschnittflächen und im Fehlen von Futterresten am Silo.

Die an den Silagen gemessene Verdichtung war sowohl im Fahrsilo als auch im Folienschlauch sehr hoch, wenngleich die Verdichtung im Schlauch geringer ist als im Fahrsilo.

Für die Erzeugung einer aerob stabilen Pressschnitzelsilage sind dringend die Grundregeln der Silierung unter Einhaltung der guten fachlichen Praxis, zu beachten. Es sollte auf schnelle Einsilierung nach Anlieferung der Pressschnitzel in heißem und hygienisch einwandfreiem Zustand geachtet werden. Aufgrund des häufig in der Praxis anzutreffenden Problems eines unzureichenden Vorschubs im Silo und auch der Unterschreitung der Mindestsilierdauer, kann es zu Nacherwärmungen kommen. Um diese zu vermeiden, ist der Einsatz von chemischen Siliermitteln der Wirkungsrichtung 2 (Verbesserung der aeroben Stabilität) wie z.B. organische Säuren (Propionsäure, Benzoesäure, Sorbinsäure) oder deren Salze möglich (Potthast et al. 2010).

Zu berücksichtigen ist, dass Pressschnitzelsilage aufgrund der im Vergleich zum Fahrsilo geringeren Verdichtung im Folienschlauch schneller zur Nacherwärmung neigen kann, insbesondere, wenn der

Vorschub nicht an den Tierbestand angepasst ist oder die Mindestsilierdauer von 6 Wochen unterschritten wird. Allerdings ist die Folienschlauchsilierung gerade durch den variabel wählbaren Schlauchdurchmesser sehr flexibel und erlaubt die Anpassung der geöffneten Silofläche an den Tierbestand und die tatsächliche Entnahme.

Literatur

Honig, H. (1990): Evaluation of aerobic stability. Grovfoder, Grass and Forage Reports, Special Issue 3. (S. 76-82). Uppsala, Schweden: Proc. Eurobac Conference

Pahlow, G. und H. Honig (1982): Pressschnitzelsilierung – Erkenntnisstand und Empfehlungen. Die Zuckerrübe 31 (5), 210-212

Potthast, C.; Brinker, S.; Maier, K.; Steinhöfel, O. (2010): Untersuchungen zur Verbesserung der aeroben Stabilität von Pressschnitzelsilagen. VDLUFA Schriftenreihe, 66. 598-605

Steinhöfel, O., I. Lippmann, K. Jäkel und U. Weber (1998): Untersuchungen zur Technologie, zu Gärprozessen, zur Umweltverträglichkeit und zur ökonomischen Effizienz des AG BAG Folienschlauchsilierversfahrens. Demonstrationsvorhaben der umweltgerechten Landwirtschaft. Abschlussbericht. Köllitsch: Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft

Steinhöfel, O. und U. Weber (2006): Haben Sie noch Fragen zu Zuckerrübenpressschnitzeln? Broschüre, Malschwitz: BAG Budissa Agroservice GmbH

Weber, U. (2005): Untersuchungen zur Silierung von Zuckerrübenpressschnitzeln in Folienschläuchen. Diss. Rer. Agr. Humboldt Universität Berlin

Autorenanschrift

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

Experimentelle Untersuchung zur Bioverfügbarkeit verschiedener Magnesiumverbindungen beim Absetzferkel

Verena S. Aichner, Brigitte R. Paulicks und Wilhelm Windisch

Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München

Einleitung

Magnesium ist das zweithäufigste intrazelluläre Mengenelement im Organismus. Dabei erfüllt es im Stoffwechsel der Wirbeltiere eine Vielzahl lebenswichtiger Funktionen. Da Magnesium als Cofaktor über 300 Enzyme aktiviert, kann eine verschlechterte Resorption oder verstärkte Exkretion zu Leistungsminderungen bei landwirtschaftlichen Nutztieren führen. Grundsätzlich wird der Magnesiumhaushalt des Körpers durch Resorption aus dem Darm, Ausscheidungen über Kot und Urin sowie Einlagerung in das Skelett reguliert. Die Resorption von Magnesium erfolgt beim Schwein über den gesamten Darm (JEROCH 2008).

In der Schweinefütterung ist eine alimentäre Magnesiumsupplementierung generell nicht notwendig, da der Bedarf der Tiere durch nativ vorkommendes Magnesium gedeckt zu sein scheint. Einige Studien haben jedoch gezeigt, dass sich eine Supplementierung mit Magnesium doch positiv auf Schweine – insbesondere unter Stressbelastung – auswirkt (NIEMACK et al. 1979). Wird zu diesem Zweck das Futter mit Magnesium supplementiert stammt dieses meist aus anorganischen Quellen, auch wenn in der internationalen wissenschaftlichen Literatur organischen Magnesiumverbindungen häufig eine deutlich höhere Bioverfügbarkeit zugesprochen wird als anorganischen (FINE et al. 1991 und WALKER 2003). Andere Autoren (FIROZ et al. 2001 und COUDRY et al. 2005) postulieren dagegen die Unabhängigkeit der Bioverfügbarkeit von verschiedenen Magnesiumverbindungen.

Ziel der vorliegenden Modellstudie war es, in einem Fütterungsversuch mit Ferkeln die Verfügbarkeit von Magnesium aus verschiedenen Magnesiumquellen anorganischer (Magnesiumoxid, Magnesiumchlorid) und organischer Herkunft (Magnesiumfumarat) zu untersuchen.

Material und Methoden

Die Studie wurde mit 48 abgesetzten Ferkeln einer Zwei-Rassen-Kreuzung (Deutsche Landrasse x Piétrain) am Lehrstuhl für Tierernährung der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan durchgeführt. Die Tiere wurden mit etwa 9 kg Lebendmasse nach Wurf, Geschlecht und Körpergewicht in vier gleichwertige Gruppen mit jeweils 12 Ferkeln eingeteilt.

Gruppe 1 diente als Kontrolle und erhielt eine Futtermischung ohne Magnesium-Supplementierung (Mg-Gehalt 1,7 g/kg). Der Zusatz an Magnesium für die Gruppen 2, 3 und 4 wurde so gewählt, dass jeweils 1,1 g Mg je kg Futter aus Magnesiumoxid, Magnesiumchlorid bzw. Magnesiumfumarat stammten. Um einen etwaigen „Säure-Effekt“ durch die Zulage von Fumarat bei Versuchsgruppe 4 auszugleichen, wurden die Futtermischungen der Versuchsgruppen 1, 2 und 3 mit entsprechenden Anteilen freier, kristalliner Fumarsäure supplementiert, wie sie in der Schweineaufzucht als Futterzusatz für Ferkel genutzt wird. Die unterschiedlichen anorganischen Anteile der Magnesiumverbindungen wurden durch Kieselgur ausgeglichen. Tabelle 1 zeigt die einzelnen Zulagen.

Tabelle 1: Supplementierung der Basismischung für die einzelnen Versuchsgruppen

Gruppe	Magnesiumverbindung	Fumarsäure	Kieselgur
1	---	8,8 g/kg	4,6 g/kg
2	Magnesiumoxid (MgO) 1,9 g/kg	8,8 g/kg	2,6 g/kg
3	Magnesiumchlorid (MgCl ₂) 9,8 g/kg	8,8 g/kg	---
4	Magnesiumfumarat (MgF) 10,0 g/kg	---	3,4 g/kg

Für den gesamten 35tägigen Fütterungsversuch wurde ein Ferkelaufzuchtfutter mit einer einheitlichen Zusammensetzung verwendet. Die Basismischung bestand im Wesentlichen aus Gerste, Weizen, Mais und Sojaextraktionsschrot und enthielt pro kg 13,4 MJ ME, 210 g Rohprotein und 12,3 g präzäkal verdauliches Lysin. Aminosäuren, Spurenelemente, Vitamine und Mineralstoffe mit Ausnahme von Magnesium wurden bedarfsdeckend (GFE 2006) ergänzt. Die in Tabelle 1 aufgelisteten Zulagen an Magnesium, Fumarsäure und Kieselgur erfolgten durch Einmischung in die fertige Basis-Ration. Das Futter wurde pelletiert und über Vorratsautomaten *ad libitum* vorgelegt.

Die Ferkel wurden während des Versuchs einzeln in einer Flatdeck-Anlage auf vollperforiertem Kunststoffrost gehalten. Als Leistungsparameter wurden Lebendmasse und Futterverbrauch von jedem Einzeltier wöchentlich ermittelt und daraus tägliche Zunahmen und Futterverwertung als Futterverbrauch je kg Zuwachs errechnet. Die Bestimmung der scheinbaren Nährstoffverdaulichkeiten erfolgte über die Indikatormethode, wobei salzsäureunlösliche Asche als Indikator diente. Dazu wurden der Basismischung 0,5 % Kieselgur beigegeben. In der fünften Versuchswoche wurden von jedem Tier über 3-5 Tage ca. 300 g Kot gesammelt. Am 35. Versuchstag wurde von allen Ferkeln eine Blutprobe aus der *Vena jugularis* zur Bestimmung der Magnesiumkonzentration im Blutplasma gewonnen.

Die Rohnährstoffgehalte in Futter und Kot wurden mittels Weender Analyse untersucht. Die Magnesiumkonzentrationen wurden an einem Atomabsorptionsspektrometers (novAA® 350, Fa. Analytik Jena, Jena) gemessen. Der Probenaufschluss erfolgte in einem Mikrowellengerät (Ethos1, Fa. MLS, Leutkirch).

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistiksoftwarepakets SAS (SAS Institute, Version 9.2, Cary, NC, USA) unter Zugrundelegung einer einfaktoriellen Varianzanalyse und einem Mittelwertsvergleich nach Duncan. Ein Tier aus Versuchsgruppe 4 musste aufgrund extrem schlechter Werte, die offensichtlich nicht behandlungsbedingt waren, von der Auswertung ausgeschlossen werden. Statistisch signifikante ($p < 0,05$) oder tendenzielle Unterschiede ($p < 0,08$) zwischen den Behandlungen sind in den Ergebnistabellen mit unterschiedlichen Hochbuchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse

Tabelle 2 zeigt, dass bei den zootechnischen Wachstumsparametern keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der vier Versuchsgruppen festzustellen waren. Im Durchschnitt lag die Lebendmasse bei 31,7 kg, was täglichen Zunahmen von 643 g im Mittel des 35tägigen Versuchs entsprach. Die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme betrug 891 g. Pro kg Zuwachs benötigten die Tiere somit 1,39 kg Futter. Bei den Gruppen 2, 3 und 4 mit Magnesiumsupplementierung wurde eine Tendenz ($p < 0,08$) zu besserem Wachstum und höherer Futteraufnahme festgestellt.

Tabelle 2: Lebendmasse (kg) bei Versuchsende sowie mittlere Lebendmassezunahmen (g/d), Futteraufnahme (g/d) und Futterverwertung (kg Futter/kg Zunahme) im Versuchsverlauf

	Lebendmasse (kg)	Zunahmen (g/d)	Futteraufnahme (g/d)	Futterverwertung (kg/kg)
Kontrollgruppe	30,60 ± 2,75	613 ± 66	843 ± 98 ^{b*)}	1,38 ± 0,09
Gruppe MgO	31,85 ± 2,09	649 ± 42	896 ± 70 ^{a,b}	1,38 ± 0,05
Gruppe MgCl ₂	31,45 ± 4,08	640 ± 95	888 ± 125 ^{a,b}	1,39 ± 0,07
Gruppe MgF	32,64 ± 4,03	670 ± 89	938 ± 139 ^a	1,40 ± 0,08

*) Verschiedene Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen tendenzielle Unterschiede (p < 0,08)

Die Magnesiumkonzentration im Kot (Tabelle 3) wurde signifikant (p < 0,05) durch den Magnesiumgehalt im Futter beeinflusst. Sie war bei den supplementierten Tieren um rund 70 % höher als in der Kontrollgruppe; die Art der Magnesiumverbindung war jedoch ohne statistisch signifikante Bedeutung.

Die Magnesiumkonzentration im Blutplasma (Tabelle 3) wurde ebenfalls vom Magnesiumgehalt im Futter beeinflusst und lag zwischen 0,65 mmol/L bei der Kontrollgruppe und 0,70 mmol/L bei der Gruppe mit Magnesiumchlorid. Die Werte der beiden anderen Gruppen bewegten sich dazwischen.

Tabelle 3: Mg-Konzentrationen in Kot (mg/g) und Blutplasma (mmol/L) der Versuchstiere

	Mg im Kot (mg/g)	Mg im Plasma (mmol/L)
Kontrollgruppe	10,46 ± 0,96 ^{b*)}	0,652 ± 0,055 ^{b*)}
Gruppe MgO	16,65 ± 1,39 ^a	0,691 ± 0,045 ^{a,b}
Gruppe MgCl ₂	17,33 ± 1,43 ^a	0,702 ± 0,063 ^a
Gruppe MgF	16,73 ± 1,12 ^a	0,669 ± 0,051 ^{a,b}

*) Verschiedene Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen signifikante Unterschiede (p < 0,05)

Die scheinbare Verdaulichkeit der Trockenmasse (Tabelle 4) betrug durchschnittlich 85 % und die von Magnesium 16,5 %. Bei beiden Parametern konnte weder ein statistisch signifikanter Unterschied noch eine gerichtete Tendenz zwischen den vier Behandlungsgruppen festgestellt werden.

Tabelle 4: Scheinbare Verdaulichkeit (VQ) von Trockenmasse und Magnesium (%)

	VQ-Trockenmasse (%)	VQ-Magnesium (%)
Kontrollgruppe	85,3 ± 1,3	16,4 ± 6,8
Gruppe MgO	84,3 ± 1,1	14,7 ± 6,9
Gruppe MgCl ₂	85,0 ± 0,9	18,2 ± 4,4
Gruppe MgF	84,9 ± 1,5	16,9 ± 7,9

Diskussion

Im vorliegenden Fütterungsversuch konnte kein signifikanter Einfluss auf die zootechnischen Leistungsparameter von Absetzferkeln beobachtet werden, wenn dem bedarfsdeckend zusammengesetzten Futter Magnesium aus anorganischen oder aus organischen Verbindungen zugelegt wurde. Allerdings waren bei Tieren mit Magnesiumsupplementierung in der Tendenz höhere Futteraufnahmen und daraus resultierend auch höhere Tageszunahmen zu beobachten, die sich insbesondere beim Einsatz von Magnesiumfumarat zeigten. Dass dies auf eine verzehrs- oder leistungsfördernde Wirkung des Fumarats zurückzuführen ist, kann hier ausgeschlossen werden, da auch im Futter der übrigen Versuchsgruppen im gleichen Anteil Fumarsäure eingesetzt wurde. Somit könnte sich die Vermutung ergeben, dass mit einem Magnesiumgehalt im Futter von Absetzferkeln in Höhe von 1,7 g/kg – wie in der vorliegenden Kontrollration – die ausreichende Versorgung der Tiere nicht gewährleistet war.

Tatsächlich ist der Magnesiumbedarf beim Schwein bis heute nicht genau bekannt, da exakte Untersuchungen zur Bedarfsableitung kaum zu finden sind. Die deutsche Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GFE 2006) geht davon aus, dass die in gebräuchlichen Futtermischungen für Schweine eingesetzten Futtermittel generell ausreichende Mengen an Magnesium enthalten. Eine Unterversorgung sei daher nicht zu befürchten, und eine Überversorgung mit Magnesium scheint kein Problem in der Fütterung oder Gesundheit darzustellen. In der Literatur finden sich lediglich ältere Versorgungsempfehlungen (NRC 1988) in Höhe von 400 – 600 mg/kg Trockensubstanz. Mit analytisch bestätigten Magnesiumgehalten im Futter von 1,7 g/kg in der Kontrollgruppe und 2,8 g/kg in den Zulagegruppen wurden diese Empfehlungen um das 3,5- bis 5-fache überschritten.

Die Magnesiumgehalte im Plasma waren weitgehend unbeeinflusst von der Magnesiumaufnahme und lagen in einem Bereich von 0,65 – 0,70 mmol/L. In der Literatur werden Werte von 0,5 – 1,3 mmol/L beschrieben (SEUTTER 1995, KIXMÖLLER 2004, KRAFT und DÜRR 2005). Die Magnesiumkonzentration im Blutserum wird außerordentlich gut über die Nieren homöostatisch reguliert (JEROCH 2008). Übermäßig absorbiertes Magnesium wird bei normaler Nierenfunktion sehr schnell aus dem Körper ausgeschieden, sodass vor allem nach der peroralen Verabreichung kaum auswertbare Konzentrationsänderungen entstehen. Bei absolutem Magnesiummangel fließt die absorbierte Menge sofort in die Peripherie, ohne dass ein Rückfluss stattfindet. Dabei ist die Ausscheidung an Magnesium minimiert.

Im vorliegenden Versuch waren signifikante Unterschiede in der Magnesiumkonzentration im Kot zwischen den Zulagegruppen und der Kontrollgruppe zu beobachten. Es wurden im Mittel um 62 % höhere Konzentrationen bei Magnesiumsupplementierung gemessen als bei der Kontrollgruppe. Dies entsprach auch der prozentualen Erhöhung des Magnesiumgehaltes im Futter. Die scheinbare Verdaulichkeit von Magnesium wurde weder durch die Magnesiumkonzentration im Futter noch durch die Art der Magnesiumverbindung beeinflusst.

Auch wenn in der vorliegenden Untersuchung durch Magnesiumzulagen keine statistisch abgesicherten Leistungsverbesserungen bei Absetzferkeln erzielt wurden, deuten der um bis zu 11 % erhöhte Futtermittelverzehr und die um bis zu 9 % höheren Tageszunahmen doch auf einen positiven Effekt durch Magnesiumsupplementierung hin. Die Ursache hierfür konnte mit der vorliegenden Versuchsanstellung nicht gefunden werden. Auch wenn die Magnesiumgehalte im Futter der nicht-supplementierten Kontrolltiere noch um mehr als 300 % über den Versorgungsempfehlungen lagen, ist eine zumindest marginale Unterversorgung nicht auszuschließen. Möglicherweise sind die Empfehlungen aufgrund der geringen Zahl an exakten Untersuchungen zur Ermittlung des Magnesiumbedarfs für Tiere moderner Genetik nicht mehr ausreichend. Ebenso könnte der bewusste Verzicht auf den Einsatz von Phytase in der vorliegenden Untersuchung einen latenten Mangel an verfügbarem Magnesium und somit eine Leistungsminderung in der Kontrollgruppe hervorgerufen haben. Zur Klärung dieser Fragen sind weitgehende Fütterungs- und Stoffwechselfersuche erforderlich.

Literatur

- COUDRY C.; RAMBEAU M.; FEILLET-COUDRY C.; GUEUX E.; TRESSOL J.C.; MAZUR A.; RAYSSIGUIER Y. (2005): Studies of magnesium bioavailability from ten organic and inorganic Mg salts in Mg-depleted rats using a stable isotope approach. In: *Magnesium Research* 18 (4), 215-233
- FINE K.D.; SANTA ANA C.A.; PORTER J.L.; FORDTRAN J.S. (1991): Intestinal absorption of Mg from food and supplements. In: *Clin. Invest.* 88, 396-402
- FIROZ M.; GRABER M. (2001): Bioavailability of US commercial magnesium preparations. In: *Magnesium Research* 14 (4), 257-262
- GFE (GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE) (2006): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Schweinen. DLG-Verlag
- JEROCH H. (2008): Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. 2., überarbeitete Auflage, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart
- KIXMÖLLER M. (2004): Labordiagnostische Referenzbereiche bei unterschiedlichen Schweinerassen sowie histopathologische und immunhistochemische Untersuchung von Gehirnen älterer Sauen und Eber auf transmissible spongiforme Enzephalopathie im Rahmen der TSE-Studie. Vet. med. Diss., München
- KRAFT W. und DÜRR U.M. (2005): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6. Auflage, Schattauer, Stuttgart
- NIEMACK E.-A.; STÖCKLI F.; HUSMANN E.; SONDEREGGER J.; CLASSEN H.G.; HELBIG J. (1979): Einfluss von Magnesium-aspartat-Hydrochlorid auf Kannibalismus, Transportstress und den Elektrolytgehalt im Herzen von Schweinen. In: *Magnesium-Bulletin* 3, 195-198
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL) (1988): Nutrient requirement of swine. 9th ed., National Academy of Sciences, Washington D.C.
- SEUTTER U. (1995): Einfluss von Rasse, Haltung, Fütterung, Management, Alter und Reproduktionsstadium auf hämatologische und klinisch-chemische Parameter beim Schwein. Vet. med. Diss., München
- WALKER A.F.; MARAKIS S.; CHRISTIE S.; BYNG M. (2003): Mg citrat found more bioavailable than other Mg preparations in a randomised double-blind study. In: *Magnesium Research* 16 (3)

Autorenanschrift

M. Sc. (TUM) Verena Sarah Aichner
Lehrstuhl für Tierernährung
Technische Universität München
Liesel-Beckmann-Strasse 6
D-85354 Freising-Weihenstephan
E-Mail: Verena.Sarah.Aichner@myTUM.de

Feldstudie zum Einfluss verschiedener Selenquellen auf die Selenversorgung der Milchkuh

Lisa Brucker und Hans Schenkel

Landesanstalt für Landwirtschaftliche Chemie, Universität Hohenheim

Einleitung

Die essentielle Bedeutung von Selen in der Tierernährung wurde erst vor gut 50 Jahren entdeckt und der Zusammenhang zwischen verschiedenen Erkrankungen und einem massiven Selenmangel diagnostiziert. Dazu zählen die Weißmuskelkrankheit bei Kälbern, Lämmern und Fohlen, die Lebernekrose sowie die Maulbeerherzkrankheit beim Schwein aber auch die exudative Diathese (Störung der Gefäßpermeabilität) beim Geflügel. Diese Erkrankungen stehen alle im Zusammenhang mit einem ungenügenden Schutz der Zellen vor reaktiven Sauerstoffverbindungen (WOLFFRAM, 2000). Dabei hat Selen durch das selenabhängige Enzym Glutathionperoxidase die größte Bedeutung für den Körper innerhalb des anti-oxidativen Systems.

Jedoch ist es bei Selen ein besonders schmaler Grat zwischen einer Mangelsituation mit entsprechenden Erkrankungen und einer toxisch wirkenden Überversorgung. Trotz dieses schmalen Grades gab es zahlreiche Studien mit verschiedenen Zulageversuchen die positive Effekte einer hohen Selenversorgung von Nutztieren auf deren Immunstatus und die Reproduktion nachweisen konnten (HOGAN et al., 1990; WEISS et al., 1990; BRZEZIŃSKA-SLEBODZIŃSKA et al., 1994; AWADEH et al., 1998; SMITH et al., 1998).

Heutzutage findet man in nahezu jedem Mineralfuttermittel den Zusatz von Selenverbindungen. Auf Grund eines gesetzlich festgelegten Höchstwertes (RL 70/524, VO EG 1831/2003) für Selen wird jedoch sichergestellt, dass eine toxische Überversorgung bei Einhaltung dieses Höchstwertes nicht stattfinden kann. In der EU sind derzeit verschiedene Selenverbindungen als Zusatz in Mineralfuttermitteln für Wiederkäuer zugelassen (European Union Register of Feed additives).

Dazu gehören die beiden anorganischen Formen Natriumselenit oder -selenat. Jedoch hat man im Laufe der Zeit weitere Formen entwickelt, die eine bessere Verfügbarkeit bieten sollen, wie z.B. die pansenstabile Form des Natriumselenits, die durch ihre Fettummantelung vor den reduzierenden Milieubedingungen im Pansen geschützt ist. Eine weitere Entwicklung im Bereich der Selenversorgung stellen organische Selenquellen dar. Aktuell sind drei inaktivierte Selenhefen (EG Nr. 3b 8.10 - CNCM I 3060, 3b 8.11 - NCYC 397, 3b 8.12 - CNCM I-3399) als organische Selenquellen in der EU zugelassen. Diesen Selenhefen spricht man eine verbesserte Verfügbarkeit sowie die Fähigkeit der Speicherung im Körper und die Weitergabe an die Nachkommen über die Plazentagängigkeit und die Anreicherung der Milch zu (ROTH & SCHEIDEMANN, 2007).

Material und Methoden

Ziel der Studie war es Unterschiede zwischen den anorganischen Selenquellen Natriumselenit und pansengeschütztem Natriumselenit sowie der organischen Form, der Selenhefe zu ermitteln. Dabei wurde der Selenstatus der Tiere anhand von Blutproben untersucht sowie der jeweilige Selengehalt in der Milch ermittelt.

An der Feldstudie nahmen 15 repräsentative Milchviehbetriebe aus dem Landkreis Ansbach in Bayern teil. Als Versuchszeitraum wurde die Zeit vom 01. Dezember 2010 bis zum 15. März 2011 gewählt.

Die Betriebe wurden in drei Behandlungsgruppen eingeteilt, so wurden für jede Behandlung fünf Wiederholungen erzeugt. Für alle drei Behandlungen wurde eine einheitliche Ergänzung von 0,3 mg Selen je kg TS Alleinfutter gewählt (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht über die drei Behandlungsgruppen

Behandlungsgruppe 1 (5 Betriebe)	0,3 mg/kg Selen in Form von Natriumselenit
Behandlungsgruppe 2 (5 Betriebe)	0,3 mg/kg Selen in Form von Natriumselenit, pansengeschützt (Sil Sel 1%, HGS ¹)
Behandlungsgruppe 3 (5 Betriebe)	0,3 mg/kg Selen in Form von Selenhefe (Sel-Plex [®] CNCM I-3060, Alltech ²)

Die Verabreichung der jeweiligen Selenquelle erfolgte, aus Gründen der einfacheren Praktikabilität, über das jeweils auf die Ration abgestimmte Mineralfuttermittel.

Die verschiedenen Mineralfuttermittel und deren Gehalte wurden mit einem kommerziellen Rationsberechnungsprogramm³ auf die entsprechende Ration der Betriebe abgestimmt. Dabei wurde für jeden Betrieb auf Basis der dort bisher eingesetzten Mineralfuttermittel und unter Beachtung des rationsabhängigen Bedarfs der Kühe eine passende Rezeptur erstellt. Die Planung und Kalkulation sowie die Produktion und Lieferung der entsprechenden Mineralfuttermittel erfolgten durch einen Mineralfuttermittelhersteller⁴.

Zu Versuchsbeginn wurden jeweils Blut- und Milchproben entnommen, um die Ausgangswerte festzustellen. In jedem Betrieb wurden zehn Tiere zur Entnahme der Blut- und Milchproben ausgewählt, so dass insgesamt 150 Versuchstiere an der Feldstudie teilnahmen. Die Proben wurden zu Versuchsbeginn und –ende durch den Tiergesundheitsdienst Ansbach entnommen.

Neben dem Selengehalt der Milch wurde der Selenstatus der Tiere anhand von drei Parametern im Blut bestimmt:

- direkte Bestimmung der Selengehalte im Vollblut (Langzeitindikator)
- direkte Bestimmung der Selengehalte im Plasma (Kurzzeitindikator)
- die Aktivitätsbestimmung der GSHPx im Vollblut

¹ HGS Handelsgesellschaft für Spezialfuttermittel mbH, Mörkenstr. 5 in 22767 Hamburg, Deutschland

² Alltech (Deutschland) GmbH, Wiesenstr. 21 (W21) in 40549 Düsseldorf, Deutschland

³ „Futter 08“ von Hybrimin[®] Computer + Programme GmbH & Co. KG in 31840 Hessisch Oldendorf, Deutschland

⁴ Bergophor Futtermittelfabrik Dr. Berger GmbH & Co. KG in 95326 Kulmbach, Deutschland

Ergebnisse

Plasma

Die Ergebnisse zeigen, dass die teilnehmenden Betriebe schon vor Versuchsbeginn eine hohe Selenversorgung erreicht hatten. So lagen zu Versuchsbeginn 93% der getesteten Tiere bei den Selengehalten im Plasma in einem Bereich zwischen 80 – 110 µg/l.

Trotz dieser hohen Selenversorgung zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen allen Selenquellen bezüglich der Selengehalte im Vollblut und im Plasma zu Versuchsende. Die Supplementierung der verschiedenen Selenquellen führten zu signifikant verschiedenen Selengehalten im Blutplasma zwischen allen der drei Behandlungsgruppen.

In der Behandlungsgruppe Natriumselenit lagen die Mittelwerte bei 74 µg/l, in der Behandlungsgruppe pansenstabiles Natriumselenit bei 89 µg/l und in der Behandlungsgruppe Selenhefe bei 108 µg/l, ($p < 0,001$).

Vollblut

Bei 69% der Tiere lagen die Selengehalte im Vollblut im Bereich zwischen 160 und 210 µg/l. 21% der Blutproben enthielten Werte über 210 µg/l, so dass auch im Vollblut der zu Beginn bereits hohe Selenstatus der Tiere deutlich wird. Auch die Analyse der Blutproben bezüglich der Selengehalte im Vollblut zeigte zu Versuchsende signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen allen drei Selenquellen.

So lagen die Mittelwerte bei 190 µg/l in der Behandlungsgruppe Natriumselenit, 232 µg/l in der Behandlungsgruppe pansenstabiles Natriumselenit und 255 µg/l in der Behandlungsgruppe Selenhefe.

Glutathionperoxidase (GSHPx)

Die Häufigkeitsverteilung der GSHPx-Aktivität zeigt, dass 61% der Tiere im Bereich zwischen 250 und 300 U/g Hb lagen. Die Tabelle 2 stellt die erzielten Mittelwerte der GSHPx der drei verschiedenen Selenquellen dar und verdeutlicht, dass die Behandlungsgruppe Natriumselenit signifikant unter den anderen beiden Behandlungsgruppen lag ($p < 0,05$).

Tabelle 2: Mittelwert, Standardfehler und statistische Signifikanz der GSHPx-Aktivität

	Anzahl Tiere	Mittelwert [U/g Hb]	Standardfehler
Behandlungsgruppe 1	n = 48	279,8^a	4,48
Behandlungsgruppe 2	n = 49	311,6^b	10,63
Behandlungsgruppe 3	n = 50	321,6^b	15,54

^{a,b} Mittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05\%$)

Selengehalte in der Milch

Vergleicht man die drei Selenquellen bezüglich der Selengehalte der Milch, ergeben sich deutliche Unterschiede vor allem gegenüber der Behandlungsgruppe 3. Für die Behandlungsgruppen, die anorganisches Selen erhielten, ergibt sich zu Versuchsende ein Mittelwert von 0,027 µg/ml in der Milch, wohingegen die Behandlungsgruppe Selenhefe mit einem Mittelwert von 0,055 µg/ml eine deutlich signifikant höhere Konzentration ($p < 0,001$) aufweist.

Die beiden anorganischen Selenquellen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p = 0,7450$).

Tabelle 3: Mittelwerte, Standardfehler & statistische Signifikanz der Selengehalte der Milch*

	Anzahl Tiere	Mittelwert [log]	Standardfehler [log]	Rücktransformierter Mittelwert [$\mu\text{g/ml}$]
Behandlungsgruppe 1	n = 48	-3,6316	0,0396	0,0265^a
Behandlungsgruppe 2	n = 48	-3,6113	0,0868	0,0270^a
Behandlungsgruppe 3	n = 49	-2,9088	0,1389	0,0545^b

^{a,b} Mittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05\%$)

* Die statistische Analyse wurde mit logarithmisch transformierten Daten durchgeführt

Diskussion

Die Lebensspanne von Rinder-Erythrozyten und die erzielten Ergebnisse im Vollblut

Selen wird bei der Entstehung der Erythrozyten in die roten Blutzellen eingebaut, so dass der Selengehalt in den Erythrozyten die Selenaufnahme der letzten ein bis drei Monate reflektiert (SMITH et al., 1998). Um einen Aussage treffen zu können, sollte die Lebensspanne der Erythrozyten für die Versuchsdauer berücksichtigt werden. Jedoch zeigen sich in der Literatur unterschiedliche Angaben bezüglich der genauen Lebensdauer von Rinder-Erythrozyten (Tabelle 4).

Tabelle 4: Übersicht der verschiedenen Angaben der Lebensdauer von Rinder-Erythrozyten

Lebensdauer von Rinder-Erythrozyten in Tagen	Quelle
120	NICKEL et al. (2005)
130	SCHALM (2010)
160	KRAFT et al. (2005)

Durch die Versuchsdauer der Feldstudie von 105 Tagen wurde diese mittlere Lebensdauer nicht voll ausgeschöpft, so dass gegebenenfalls die maximale Selenkonzentration noch nicht erzielt wurde, jedoch sind die Ergebnisse zum Vergleich der Selenquellen auf Grund der signifikanten Unterschiede aussagefähig. In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben zur Dauer einzelner Versuche. So dauerte der Versuch von KNOWLES et al (1999) 133 Tage, bei MALBE et al. (1995) wurden für die Studie 56 Tage gewählt und bei JUNIPER et al. (2006) waren es 35 Tage.

Die Ergebnisse der Aktivität der GSHPx und die Eignung des biochemischen Parameters zur Statusfassung

Ein weiterer Punkt ist die Aussagefähigkeit und die daraus resultierende Interpretation der Werte des biochemischen Parameters bei einem sehr hohen Selenstatus. Betrachtet man die aus der Beratung stammenden Werte bezüglich einer optimale Versorgung im Hinblick auf die Aktivität der GSHPx im Vollblut von 120-300 U/g Hb (MAHLKOW-NERGE, 2010), zeigen die Ergebnisse auch hier, dass sich die Tiere in einer optimalen bis hohen Selenversorgung befanden. So waren 84% der Tiere im Bereich von 120-300 U/g Hb und 16% der Tiere über 300 U/g Hb. KRAFT et al. (2005) zufolge stellt die Bestimmung der GSHPx-Aktivität eine gute Möglichkeit dar, den Selenstatus der Tiere zu bewerten. So zeigt sie einen Selenmangel gut an, jedoch nicht die Überversorgung. Auch nach HOFMANN (2005) korrelieren die Selenkonzentration im Vollblut und die GSHPx-Aktivität sehr eng bei marginaler Selenversorgung, aber die Überversorgung wird durch die GSHPx nicht angezeigt.

Die Ergebnisse dieser Feldstudie zeigen einen teils hohen bis sehr hohen Selenstatus der Tiere auf, jedoch lässt sich eine mögliche Überversorgung nicht nachweisen, so dass auf Grund der Werte der GSHPx die signifikante Unterschiede in den Ergebnisse entsprechend bewertet werden können.

Die Interpretation der erzielten Ergebnisse bei nicht-einheitlichen Normbereichen für die Parameter im Blut und optimaler Versorgungslage

Um die Ergebnisse der Blutuntersuchungen einordnen zu können, bedarf es einer Einteilung in gewisse Normbereiche wie defizitär – adäquat – überversorgt. Nach SCHOLZ & STÖBER (2006) sind die Referenzwerte sehr laborabhängig, werden also durch die Bestimmungsmethode bedingt. Dadurch sind in der Literatur eine Vielzahl von Referenzwerten vorhanden, welche die einheitliche Einordnung in die Normbereiche defizitär, adäquat und überversorgt erschweren (Tabelle 5).

Tabelle 5: Selenkonzentrationen beim Rind in µg/l Vollblut, nach verschiedenen Autoren

Autoren	defizitär	marginal	adäquat	überversorgt
DARGATZ & ROSS (1996)	<50	51-80	81-160	>161
SMITH et al. (1998)	< 140	140-200	>200	
KINCAID (1999)	<60	60-200	210-1200	>1200
HOFMANN (2005)	<40	40-70	70-120	>120

Bei der Interpretation der Selenkonzentration im Plasma ist ebenfalls die nicht-einheitliche Einordnung in Normbereiche problematisch, so dass auch hier die Bestimmungsmethode entscheidend ist. Wobei wiederum eine Vielzahl von Referenzwerten in der Literatur zu finden ist.

Die Officialberatungen der Länder und Landwirtschaftskammern legen einer optimalen Selenversorgung folgende Selengehalte zu Grunde: so soll nach MAHLKOW-NERGE (2010) die Selenkonzentration im Serum über 80 µg/l aufweisen, die Empfehlung des Tiergesundheitsdienst Bayern liegt bei 60-110 µg/l und das Amt für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten in Ansbach empfiehlt einen Selengehalt von 80 -110 µg/l im Plasma.

Vergleicht man die in der Feldstudie erzielten Ergebnisse mit diesen Empfehlungen wird deutlich, dass bei den teilnehmenden Betriebe zu Versuchsbeginn 93% der Tiere bei den Selengehalten im Plasma in einem Bereich zwischen 80 -110 µg/l lagen und somit nach diesen Vorgaben bereits optimal versorgt waren. Die Ergebnisse zeigen allerdings auch, dass trotz dieser bereits optimalen Versorgungslage eindeutige Unterschiede zwischen den Selensupplementen erzielt wurden.

Die Übersicht von WEISS (2003) vergleicht Ergebnisse verschiedener Studien zum Thema Selenversorgung von Milchkühen und der Einsatz anorganischer und organischer Selenformen. WEISS (2003) stellt in dieser Übersicht fest, dass bei vielen dieser klinischen oder experimentellen Studien die meisten Kontrollrationen defizitär im Hinblick auf die Selenversorgung sind. Zusätzliche Supplementierung von Selen-adäquaten Rationen sollten vermutlich keine zusätzlichen klinischen Vorteile erzielen. Manche Studien weisen deutlichere Unterschiede zwischen den Selenquellen auf, wenn die Tiere marginal versorgt sind bzw. zuvor eine Depletionsphase durchgeführt wurde. So zeigt die Studie von MALBE et al. (1995) beim Vergleich der Selenquellen deutliche Unterschiede zwischen anorganischen und organischen Quellen, jedoch bei zuvor defizitär versorgten Milchkühen.

In der vorliegenden Feldstudie wurden keinerlei klinische Auswirkungen auf das Tier untersucht, sondern der Selenstatus der Tiere anhand verschiedener Parameter festgestellt und Unterschiede zwischen den Selenquellen untersucht. Trotzdem wird deutlich, dass es trotz fehlender Depletionsphase möglich war eindeutige Effekte der Selenquellen aufzuweisen.

Schlussfolgerung

Betrachtet man alle Ergebnisse der Feldstudie wurden signifikante Unterschiede zwischen den drei Selensupplementen erzielt. Der Einsatz der Selenhefe zeigt neben den Selengehalten im Vollblut und im Plasma auch in der Milch signifikante Unterschiede zu den anderen beiden anorganischen Selenquellen mit einem jeweils höheren Mittelwert. Vergleicht man nur die pansenstabile Form mit Natriumselenit bei den Selengehalten im Plasma und im Vollblut, erzielt hier die pansenstabile Form höhere Mittelwerte und dadurch signifikante Unterschiede. Darüber hinaus wurde an mehreren Stellen deutlich, dass die teilnehmenden Betriebe schon vor Versuchsbeginn einen hohen Selenstatus erreicht hatten, wobei trotzdem Unterschiede zwischen den Selenquellen aufgezeigt werden konnten.

Literatur

- AWADEH F.T., KINCAID R.L. & JOHNSON K.A. (1998) Effect of Level and Source of Dietary Selenium on Concentrations of Thyroid Hormones and Immunoglobulins in Beef Cows and Calves; In: *Journal of Animal Science* 76:1204-1215
- BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E., MILLER J.K., QUIGLEY J.D., MOORE J.R. & MADSEN F.C. (1994) Antioxidant Status of Dairy Cows Supplemented Prepartum with Vitamin E and Selenium. In: *Journal of Dairy Science* 77: 3087-3095
- DARGATZ D.A. & ROSS P.F. (1996) Blood selenium concentrations in cows and heifers on 253 cow-calf operations in 18 states. In: *Journal of Animal Science* 74: 2891-2895
- HOFMANN W. (2005) Mangelkrankheiten; In: *Rinderkrankheiten* (Hrsg. Hofmann) 2. Auflage. Eugen Ulmer KG, Stuttgart S. 445-456
- HOGAN J.S., SMITH K.L., WEISS W.P., TODHUNTER D.A. & SCHOCKEY W.L. (1990) Relationship among Vitamin E, Selenium and Bovine Blood Neutrophils; In: *Journal of Dairy Science* 73: 2372-2378
- JUNIPER D.T., PHIPPS R.H., JONES A.K. & BERTIN G. (2006) Selenium supplementation of lactating dairy cows: Effect on selenium concentration in blood, milk, urine and faeces. In: *Journal of Dairy Science* 89: 3544-3551
- KINCAID R.L. (1999) Assessment of trace mineral status of ruminants: A review; In: *Proceedings of the American Society of Animal. Science*, 1-10
- KNOWLES S.O., GRACE N.D., WURMS K. & LEE J. (1999) Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk and casein selenium concentrations in grazing cows; In: *Journal of Dairy Science* 82: 429-437
- KRAFT W. & DÜRR U.M. (2005) Spurenelementanalyse; In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin* (Hrsg. W. Kraft & U.M. Dürr) 6. Auflage. Schattauer, GmbH Stuttgart S. 468-472
- MAHLKOW-NERGE K. (2010) Erfolgreich füttern: Selen – für Milchkuhe besonders wichtig; Adresse: http://lwksh.de/cms/fileadmin/user_upload/Presse/Archiv_2010/PDF_4610_20.11.2010/31-31_Mahlkow-Nerge.pdf (Letzter Zugriff: 25.01.2011)
- MALBE M., KLAASSEN M., FANG W., MYLLYS V., VIKERPUUR M., NYHOLM K., SANKARI W., SUORANTA K. & SANDHOLM M. (1995) Comparisons of selenite and selenium yeast feed supplements on Se-incorporation, mastitis and leukocyte function in Se-deficient dairy cows; In: *Journal of Veterinary Medicine (Ser. A)* 42: 111-121
- NICKEL R., SCHUMMER A. & SEIFERLE E. (2005) Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band III, Kreislaufsysteme, Haut und Hautorgane. K.H. Habermehl, B. Vollmerhaus, H. Wilkens & H. Waibl (Hrsg.) 4. Auflage, Parey Verlag in MVS Medizinverlag Stuttgart GmbH & Co. KG, Stuttgart: S.3
- ROTH S. & SCHEIDEMANN C. (2007) Organisch gebundenes Selen in der Wiederkäuerfütterung. In: *Nutztierpraxis Aktuell: Das Forum der Agrar- und Veterinär-Akademie. Sonderdruck. Tagungsband, AVA, Horstmar-Leer*: S. 2-5
- SCHALM (2010) Schalm´s Veterinary Hematology; D. Weiss & K.J. Wardrop (Editors) 6. Auflage, Blackwell Publishing Ltd., Iowa, USA: S.138
- SCHOLZ H. & STÖBER M. (2006) Mangel-, vergiftungs- und haltungsbedingte Krankheiten der Bewegungsorgane; In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*; Hrsg. G. Dirksen; H.-D. Gründer, M. Stöber; 5. Auflage. Parey Verlag, Stuttgart: 1000-1004
- SMITH K.L., WEISS W.P. & HOGAN J.S. (1998) Influence of vitamin E and selenium on mastitis and milk quality in dairy cows. In: *Proceedings of the Mid-South Ruminant Nutrition Conference*: 55-62
- WEISS W.P. (2003) Selenium nutrition of dairy cows: comparing responses to organic and inorganic selenium forms. In: *Nutritional Technology in the Feed and Food Industries. Proceedings of Alltech´s 19th Annual Symposium* Ed. by Lyons T.P. and Jacques: 333-343

WEISS W.P., HOGAN J.S., SMITH K.L. & HOBLET K.H. (1990) Relationships among Selenium, Vitamin E, and Mammary Gland Health in Commercial Dairy Herds. In: Journal of Dairy Science 73: 381-390

WOLFFRAM S. (2000) Der Stoffwechsel ernährungsphysiologisch relevanter anorganischer und organischer Selenverbindungen. In: Übersicht Tierernährung 28: 65-94

Autorenanschrift

Lisa Brucker, Professor Dr. Hans Schenkel
Landesanstalt für Landwirtschaftliche Chemie, Universität Hohenheim
Emil-Wolff-Straße 12
70599 Stuttgart
E-Mail: Lisa_Brucker@web.de
E-Mail: schenkel@lachimie.uni-hohenheim.de

Einfluss von marginalem Zinkmangel auf die Metabolite von Vitamin D im Blutplasma von Ferkeln

Katharina Weiß und Wilhelm Windisch

Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München

Einleitung

Frühere Untersuchungen ergaben Hinweise auf Wechselwirkungen zwischen Zink und Vitamin D in Bezug auf den Knochenstoffwechsel. So wird Zinkmangel als Risikofaktor für die Entwicklung von Osteoporose beim Menschen angesehen (ATIK 1983; FUSHIMI et al. 1993). Demgegenüber stimuliert der biologisch aktive Vitamin-D-Metabolit 1,25-(OH)₂D₃ (Calcitriol) den Knochenstoffwechsel, was durch zusätzliche Gaben von Zink noch weiter gesteigert werden konnte (YAMAGUCHI und OISHI 1989). In Studien mit adulten Labortieren blieb dieser Zink-Effekt jedoch aus (ERBEN et al. 2009). In diesem Zusammenhang sollte die vorliegende Untersuchung klären, ob ein marginaler Zinkmangel die Konzentration der Metabolite des Vitamin D im Blutplasma von Ferkeln beeinflusst.

Material und Methoden

Die Studie wurde in 2 Durchgängen mit jeweils 48 frisch abgesetzten Ferkeln der Kreuzung (deutsche Landrasse × Edelschwein) × Pietrain durchgeführt, die zu Beginn ein Alter von 4 Wochen aufwiesen. Die Tiere wurden mit etwa 8 kg Lebendmasse in 4 Gruppen zu je 24 Tieren eingeteilt, wobei sie folgende Zinkzulagen erhielten:

Gruppe 0: keine Zinkzulage

Gruppe 1: 15 mg Zink/kg

Gruppe 2: 30 mg Zink/kg

Gruppe 3: 50 mg Zink/kg

Die Tiere erhielten ein einheitliches Futter mit praxisüblicher Zusammensetzung (hauptsächlich Weizen und Sojaextraktionsschrot). Der native Zinkgehalt des Futters betrug 42 mg/kg und wurde je nach Behandlungsgruppe durch Einmischung unterschiedlicher Mengen an Zink anorganischer bzw. organischer Herkunft (Zinksulfat Heptahydrat (Merk, Darmstadt, Deutschland), Zinkglycinat (B-Traxim[®] 2C, Pancosma SA., Le Grand-Saconnex, Schweiz), Zinkaminosäurenchelat (Optimin[®] Zinc, Trouw Nutrition International, Putten, Niederlande) entsprechend der oben genannten Zulagen in 4 Stufen erhöht. Hierbei waren die einzelnen Zinkquellen gleichmäßig über die einzelnen Behandlungsgruppen verteilt. Alle anderen Nährstoffe (essentielle Aminosäuren, Mengen- und Spurenelemente, Vitamine) wurden durch entsprechende Supplementierungen bedarfsdeckend eingestellt (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie 2006). Der Energiegehalt der Ration betrug 13,4 MJ ME/kg.

Die Ferkel wurden in einer vollklimatisierten Flatdeck-Anlage tierindividuell aufgestellt und *ad libitum* gefüttert. Wasser stand zur freien Verfügung.

Die Futteraufnahme und die Gewichtsentwicklung wurden wöchentlich ermittelt. Nach 35 Tagen unterschiedlicher Zinkversorgung wurde von jedem Tier nach Nüchternung eine Blutprobe von 10 ml Blut aus der Vena jugularis in heparinisierten Polyethylenröhrchen entnommen, durch Zentrifugieren (1100×g, 10 Minuten, 4°C) das Blutplasma gewonnen und bei -80°C bis zur Analyse tiefgefroren ge-

lagert. Weitere Angaben über Fütterung, Haltung und Probenahmen sind bei Paulicks et al. (2011) beschrieben.

Nach Auftauen des Blutplasmas bei Zimmertemperatur wurde die Konzentration an Zink im Blutplasma nach Verdünnung mit doppelt destilliertem Wasser (1:5) direkt an einem Atomabsorptionsspektrophotometer (AAS, Modell 5100, Perkin Elmer, Überlingen, Deutschland) gemessen. Der Vitamin-D-Metabolit Calcidiol (25-Dihydroxycholecalciferol, 25-OH-D₃) wurde mit dem Reagenzienkit der Firma Chromsystems GmbH, München, Deutschland für die Analyse im HPLC-Gerät (La Chrom HPLC-Systeme, E. Merk, Darmstadt, Deutschland) vorbereitet. Neben Calcidiol wurde auch der Vitamin-D-Metabolit Calcitriol (1,25-Dihydroxycholecalciferol, 1,25-(OH)₂D₃) im Blutplasma gemessen. Hierzu verwendete man den 1,25-(OH)₂-Vitamin D ELISA Kit (Immundiagnostik AG, Bensheim, Deutschland).

Der statistische Vergleich erfolgte über eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA). Dieser wurde mit dem Statistikprogramm R (R-Projekt 2.13.1) durchgeführt. Die nachfolgenden Tabellen zeigen die Mittelwerte der einzelnen Behandlungsgruppen und die Reststreuung aus der Varianzanalyse (SE, standard error [root MSE]). Signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten werden ($p \leq 0,05$) mit Hochbuchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse

Der Versuch lief über den ganzen Versuchszeitraum ohne nennenswerte Komplikationen. Es fielen insgesamt 3 Tiere ohne Bezug zur unterschiedlichen Fütterung aus. Bei den Tieren traten äußerlich keine erkennbaren Zinkmangelsymptome auf.

Wie Tabelle 1 zeigt, wiesen Tiere ohne Zink-Supplementierung des Futters eine nominal verminderte Futteraufnahme ($p > 0,2$) auf, einen signifikant reduzierten Gewichtszuwachs und den niedrigsten Zinkgehalt im Blutplasma. Ab einer Zinkzulage von 15 mg/kg Futter erreichten der Futterverzehr und der Gewichtszuwachs bereits stabile Werte. Demgegenüber stieg der Plasma-Zn-Gehalt durch weitere Zinkzulagen noch an und erreichte erst ab eine Zulage von 30 mg/kg ein Plateau. Die Konzentrationen an Calcidiol und Calcitriol im Blutplasma der Tiere wurden durch die unterschiedliche Zinkversorgung nicht beeinflusst und lagen im Gesamtmittel bei 14,3 pg/ml bzw. 159 µg/l.

Korrelationsanalysen der individuellen Plasmawerte an Calcidiol bzw. Calcitriol mit den Parametern Plasma-Zn, Futterverzehr und Gewichtszuwachs ergaben nur bei Calcitriol und Zuwachsrate eine statistische Signifikanz ($r = 0,27$, $p < 0,02$) (siehe Abbildung 1).

Tabelle 1: Futterverzehr und Gewichtszuwachs über die 35tägige Versuchsdauer sowie Konzentrationen an Zink, 25-OH-D₃, und 1,25-(OH)₂D₃ am Ende des Versuchs

Zink-Zulage (mg/kg)	0	15	30	50	SE
Futterverzehr (kg)	23,0	26,3	25,4	26,0	3,5
Gewichtszuwachs (kg)	16,8 ^a	19,8 ^b	19,1 ^b	19,6 ^b	2,7
Zn im Blutplasma (µg/ml)	0,14 ^a	0,31 ^b	0,50 ^c	0,55 ^c	0,14
25-OH-D ₃ (pg/ml)	13,7	13,5	15,5	14,3	3,5
1,25-(OH) ₂ D ₃ (µg/l)	162	174	164	183	45

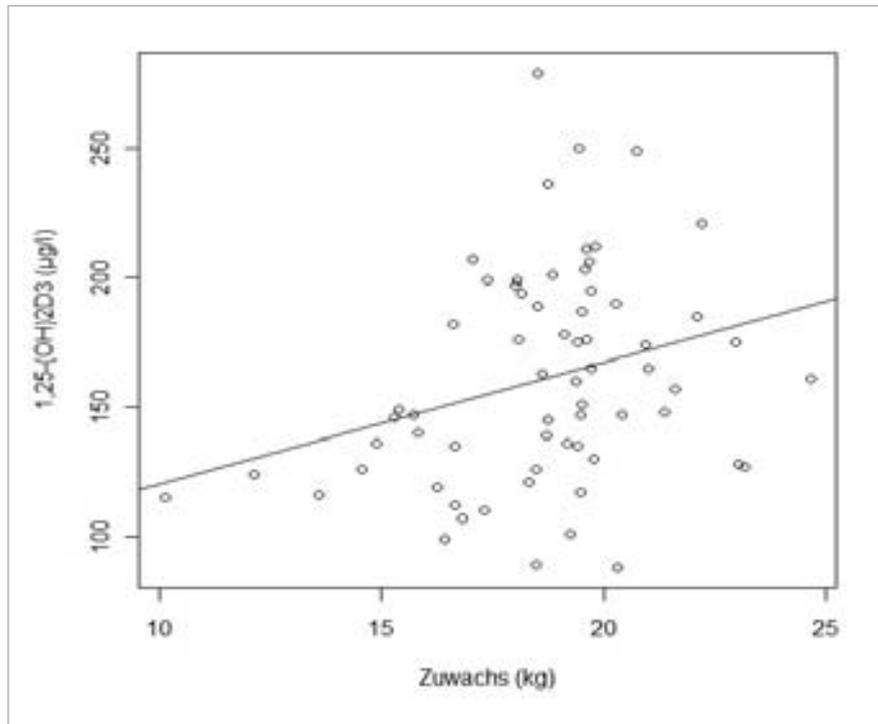


Abbildung 1: Gehalte an 1,25-(OH)₂-D₃ im Blutplasma (µg/l) in Anhängigkeit von Gewichtszuwachs (kg)

Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung sollte geprüft werden, ob ein marginaler Zinkmangel die Konzentration der Metabolite des Vitamin D im Blutplasma von Ferkeln beeinflusst. Hierfür wurden vier Gruppen mit einer abgestuften Zulage an Zink gefüttert. Ohne Supplementierung an Zink war die Zinkkonzentration im Plasma reduziert und der Gewichtszuwachs sowie die Futteraufnahme leicht vermindert. Ab einer Zn-Zulage über das Futter von 30 mg/kg waren alle Zn-Statusparameter normal, so dass ab dieser Supplementierung von einer bedarfsdeckenden Zinkversorgung ausgegangen werden kann. Somit eignete sich das vorliegende Tiermodell zur Beantwortung der eingangs gestellten Fragestellung. Es bleibt festzuhalten, dass die Unterversorgung der Tiere an Zink allenfalls marginal war, denn während des ganzen Versuchs konnten keine äußerlichen Zeichen eines Zinkmangels beobachtet werden.

Die unterschiedlichen Zulagen an Zink hatten keinen Einfluss auf die Konzentration an 25-OH-D₃ und 1,25-(OH)₂D₃ im Blutplasma. Der für die beiden ersten Tiergruppen evidente marginale Zinkmangel hatte somit keinen Einfluss auf diese beiden Metabolite. Auch in einer Studie von ERBEN et al. (2009) in der die Auswirkung eines länger anhaltenden, marginalen Zinkmangels auf den Knochenstoffwechsel ausgewachsener Ratten untersucht wurde, hatte marginaler Zinkmangel keinen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel. Knochenmasse, -struktur und turnover blieben in dieser Studie ebenfalls unverändert.

Die vorliegende Studie ergab jedoch eine Korrelation des individuellen Zuwachses mit dem Plasmaspiegel an 25-OH-D₃. Dies dürfte weniger mit Zinkmangel *per se* zu erklären sein sondern mit dem

Umstand, dass die Tiere ohne Zinkzulage eine leichte Verminderung des Futtermittelsverzehrs bzw. des Gewichtszuwachses aufwiesen. So ist bekannt, dass der Knochenstoffwechsel wachsender Tiere sehr sensitiv auf die Höhe der Nährstoffversorgung reagiert (Cannon et al. 1988; McConnell und Henkin 1974). Zur Differenzierung eines derartigen indirekten Effekts der Futteraufnahme auf den Plasmaspiegel an 25-OH-D₃ wäre zwar eine *pair fed* Haltung der Tiere erforderlich gewesen. Die Korrelation zwischen dem Gewichtszuwachs und dem Plasmaspiegel an 25-OH-D₃ war jedoch letztendlich so gering, dass ihr keine größere physiologische Bedeutung zugewiesen werden kann.

Insgesamt ergab die vorliegende Studie keinen Hinweis auf einen direkten Zusammenhang zwischen Zinkmangel und den Gehalten an Calcidiol bzw. Calcitriol im Blutplasma. Die leichte Korrelation zwischen Calcitriol und Zuwachsrates ist allenfalls als indirekte Folge eines durch Zinkmangel verminderten Futtermittelsverzehrs zu erklären. Offenbar beeinflusst die Zinkversorgung den Knochenstoffwechsel erst in einer starken Mangelsituation bzw. nach Erschöpfung körpereigener Zinkreserven.

Literatur

- Atik, O. S. (1983): Zinc and senile osteoporosis. In: J Am Geriatr Soc 31 (12), S. 790-791
- Cannon, D. S.; Crawford, I. L.; Carrell, L. E. (1988): Zinc deficiency conditions food aversions in rats. In: Physiol. Behav 42 (3), S. 245-247
- Erben, Reinhold G.; Lausmann, Katja; Roschger, Paul; Schüler, Christiane; Skalicky, Monika; Klaushofer, Klaus; Windisch, Wilhelm (2009): Long-term marginal zinc supply is not detrimental to the skeleton of aged female rats. In: J. Nutr 139 (4), S. 703-709
- Fushimi, H.; Inoue, T.; Yamada, Y.; Horie, H.; Kameyama, M.; Inoue, K. et al. (1993): Zinc deficiency exaggerates diabetic osteoporosis. In: Diabetes Res. Clin. Pract 20 (3), S. 191-196
- McConnell, S. D.; Henkin, R. I. (1974): Altered preference for sodium chloride, anorexia, and changes in plasma and urinary zinc in rats fed a zinc-deficient diet. In: J. Nutr 104 (9), S. 1108-1114
- Paulicks, Brigitte R.; Ingenkamp, Hanna; Eder, Klaus (2011): Bioavailability of two organic forms of zinc in comparison to zinc sulphate for weaning pigs fed a diet composed mainly of wheat, barley and soybean meal. In: Arch Anim Nutr 65 (4), S. 320-328
- Yamaguchi, M.; Oishi, H. (1989): Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on bone metabolism in tissue culture. Enhancement of the steroid effect by zinc. In: Biochem. Pharmacol 38 (20), S. 3453-3459

Autorenanschrift

Prof. Dr. Wilhelm Windisch
Lehrstuhl für Tierernährung
Technische Universität München
Liesel-Beckmann-Straße 6
D-85350 Freising- Weihenstephan
E-Mail: wilhelm.windisch@wzw.tum.de

Capillary Electrophoresis Coupled with Inductively Coupled Plasma Spectrometry (CE-ICP-MS): a tool for determination of copper and manganese glycinate complexes in feeds and after in vitro gastro-intestinal simulations

Catherine Ionescu¹, Veronique Vacchina², Ryszard Lobinski³ and David Bravo¹

¹ Pancosma S.A., Le Grand –Saconnex, Geneva, Switzerland

² UT2A, Pau, France

³ CNRS, Pau, France

Introduction

Organic trace minerals are based on the complexation of metals such as Cu and Mn with organic compounds. A source of organic trace minerals based on the complexation of metal sulfates with the specific amino acid glycine, B-TRAXIM[®] 2C (BT), has a crystalline form in powder. This crystalline form has permitted full identification of products chemical formula through the use of X-Ray diffraction technology (Oguey et al., 2008). BT have shown better absorption results than inorganic sources in several species (Schlegel and Windisch, 2006; Männer et al., 2006; Hansen et al., 2008). However, the reason of their better absorption remains unclear. One hypothesis is that they reach absorption site as complexed metals. However metal complexes cannot be easily identified or quantified in complex media. Precedent results have shown that Copper and Manganese glycinate complexes (BT Cu and BT Mn) could be identified and quantified in premixes containing or not their respective sulphates through their metal-glycine molecule (Vacchina et al., 2010). This work involved the identification and quantification of BT Cu and BT Mn in feeds and after gastro-intestinal simulations in order to check if the stability of the complexes enables this hypothesis.

Materials and methods

Standards

The metal glycinate complexes used, B-TRAXIM[®] 2C (PANCOSMA), were of the following chemical formulas:

- BT Cu: $[\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)(\text{H}_2\text{O})_2(\text{SO}_4)]_n$
- BT Mn: $[\text{Mn}(\text{SO}_4)(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)]_n$

Feeds

A typical gestating sow feed formulation was used. Two feeds were prepared industrially one containing BT Cu and BT Mn and the other one a 50/50 combination of BT Cu, BT Mn and their corresponding sulphates.

The two feeds were subsequently spiked with 15 mg/kg of Cu and Mn provided as BT Cu and BT Mn.

The spiked feeds have been extracted as follow. One g of feed was extracted by 10 mM of ammonium acetate (pH 7.4) by agitation on an elliptic table at room temperature. The obtained extracts were centrifuged and then ultrafiltered on a 10 kDa filter prior to injection.

Gastro-intestinal simulations

Enzymolysis was carried out in two steps, corresponding to the conditions in the stomach and in the intestine. To mimic gastric conditions, a portion of 1 g of feed sample was incubated in a shaker water bath at 37°C for 4 h with 5 mL of gastric juice (1% of pepsin in 0.15 M NaCl acidified with HCl to pH 2). To mimic gastro-intestinal conditions, the gastric digested samples were brought to almost neutral pH by adding 2 M NaHCO₃. Then 5 mL of intestinal juice (3% of pancreatin, 1.5% of amylase and 1% of bile salts in 0.15 M NaCl) was added. The samples were further incubated for 4 h at 37°C.

After extraction, the supernatant was separated by centrifugation (3000 rpm, 5 min) and further ultrafiltered on a 10 kDa filter unit (4000 rpm, 30 min) prior to injection.

Instrumentation

Analyses have been done with capillary electrophoresis (Agilent, Tokyo, Japan) coupled to an ICP-MS (Agilent 7500ce, Tokyo, Japan) through the CETAC CEI-100 interface (CETAC, Omaha, NE, USA).

Analyses were done in triplicates.

Results

Quantification of BT Cu and BT Mn in feed samples

BT Cu and BT Mn were determined in feed samples after aqueous extraction. The electropherograms obtained for the extracts are presented Figure 1 and 2 for the BT enriched and the BT/sulphates enriched samples respectively. In each case, the identification of the BT complex was made by spiking a BT standard on the extract. After spiking, the only peak increasing was the BT species whereas the other peaks correspond to other naturally present species in the diet.

In the BT enriched sample, the concentrations recovered were of 14 ± 3 and 14 ± 3 mg/kg for an expected concentration of 15 mg/kg for both species. Therefore there is a good correlation between the expected and measured value. In the other sample, the baseline taking down makes quantification difficult.

In-vitro gastric and gastrointestinal extractions

The electropherograms obtained from feeds extracts subject to gastric simulations and used for the determination of BT Mn and BT Cu are presented Figure 3.

After gastric digestion, as can be seen in figure 3 (a) and 3 (b) some peaks corresponding to BT Cu and BT Mn were found. However, it looks like BT are partly degraded during gastric digestion.

The electropherograms obtained from feeds extracts subject to gastric simulations and used for the determination of BT Mn and BT Cu are presented Figure 4.

After gastro-intestinal digestion, typical peaks corresponding to BT Cu and BT Mn were found in the different samples. As the glycinate complex was, at least partly, broken during the gastric digestion, it seems that the complex was reconstituted after buffering the solution.

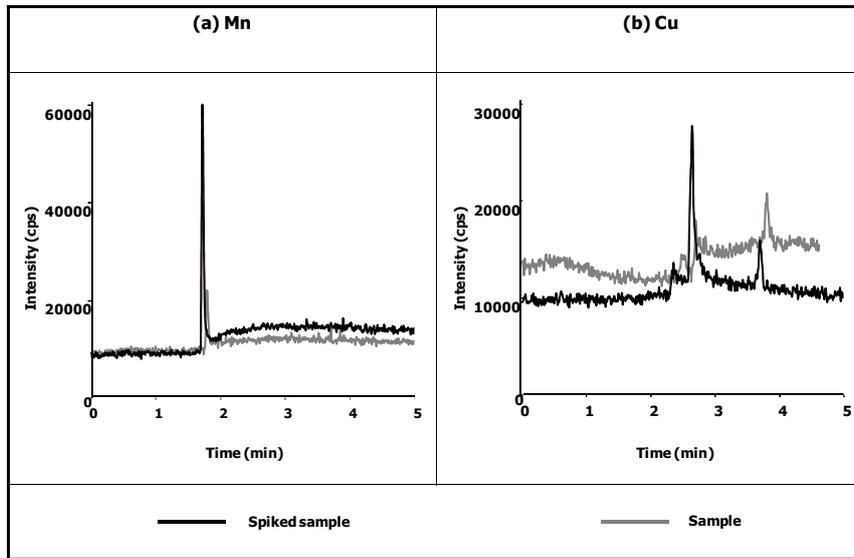


Figure 1: Electropherograms of BT enriched feed extracts containing BT Mn (a) and BT Cu (b) and their spiked sample

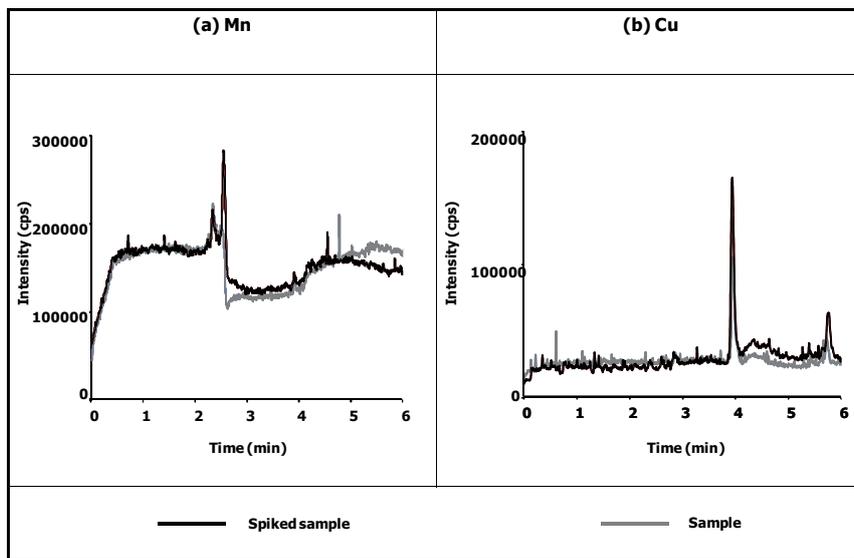


Figure 2: Electropherograms of feed extracts containing BT Mn (a), BT Cu (b) with their respective sulphates and their spiked sample

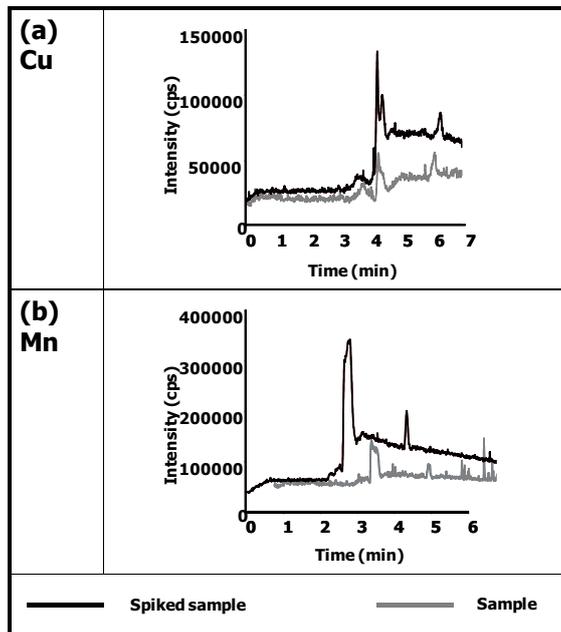


Figure 3: Electropherograms of simulated gastric extract containing BT Cu (a) and BT Mn (b) and their spiked samples

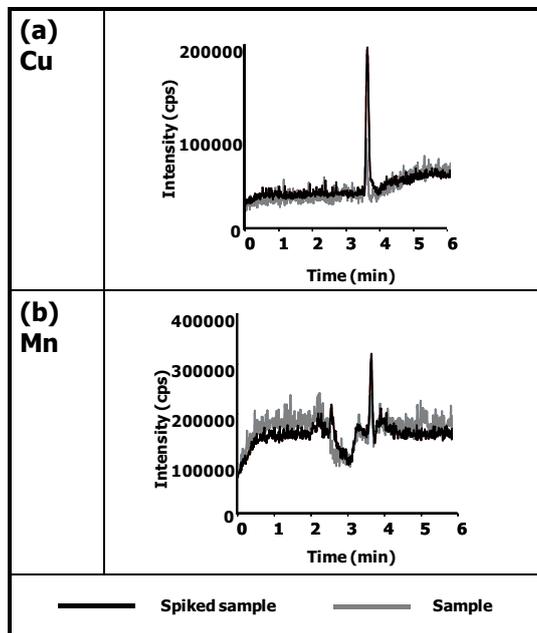


Figure 4: Electropherograms of simulated gastro-intestinal (b) extracts containing BT Cu, BT Mn and their spiked sample

Discussion

The use of the CE-ICP-MS technique has enabled to identify BT Cu and BT Mn organic molecules in typical sow feeds containing or not their corresponding sulphates after aqueous extraction. These analytical results show that it is now possible to identify BT Mn and Cu in feed formulations. The quantification of BT Cu and BT Mn under their complexed form have only been possible in feeds not containing sulphates showing the limits of the analytical technique to metal matrixes modifications.

In order to be absorbed by the enterocyte, the BT molecules have to be stable in the different conditions that strew their path into the digestive tract. The simulations of feeds, containing BT, to gastric and gastrointestinal conditions have permitted to mimic the way gastro-intestinal contents can interact with the molecules. The BT Cu and BT Mn molecules have been identified in simulated gastric extracts to a low extent and to a high extent in gastro-intestinal extracts. These results indicate that the strong binding power of the gastro-intestinal contents may lead to the building of new complexes but that some of them can correspond to BT organic form. Those results show that a proportion of BT Cu and BT Mn is able to keep its organic link in gastro-intestinal contents and that BT Cu and BT Mn molecule have the chemical ability to remain partly under a complexed form until they can reach the absorption site.

References

- Hansen S.L., Schlegel P., Legleiter L.R., Lloyd K.E. and Spears J.W. (2008): Bioavailability of copper from copper glycinate in steers fed high dietary sulfur and molybdenum. *Journal of Animal Science*, 86, 173-179
- Männer K., Simon O. and Schlegel P. (2006): Effect of different iron, manganese, zinc and copper sources (sulphates, chelates, glycinate) on their bioavailability in early weaned piglets. 9. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, 28.-30. November, Universität Halle-Wittenberg. 35-27
- Oguey S., Neels A. and Steockli-Evans H. (2008): Chemical identity of crystalline trace mineral glycinate for animal nutrition. In: Trace elements in animal production systems. Ed. by Schlegel P, Durosoy S, Jongbloed AW, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands. 245-246
- Schlegel P. and Windisch W. (2006): Bioavailability of zinc glycinate in comparison with zinc sulphate in the presence of dietary phytate in an animal model with 65Zn labelled rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90, 216-222
- Vacchina V., Oguey S., Ionescu C., Bravo D. and Lobinski R. (2010): Characterization of metal glycinate complexes by electrospray Q-TOF-MS/MS and their determination by capillary electrophoresis-ICP-MS: application to premix samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 398, 435-449

Corresponding author

Catherine Ionescu
PANCOSMA
Voie des traz 6
1218 Le Grand-Saconnex, Switzerland
E-mail: catherine.ionescu@pancosma.ch

INNOVATIVE MINERAL SOLUTIONS



SUCRAM

OUT SPECIES

PANCOSMA

INNOVATIVE SYNERGISTIC SOLUTIONS

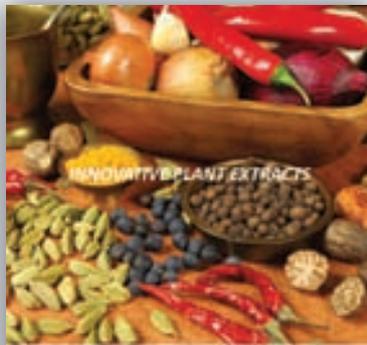


Taktik^{X-IN}

OUT SPECIES

PANCOSMA

INNOVATIVE PLANT EXTRACTS



XTRACT[®]

OUT SPECIES

PANCOSMA

INNOVATIVE MINERAL SOLUTIONS

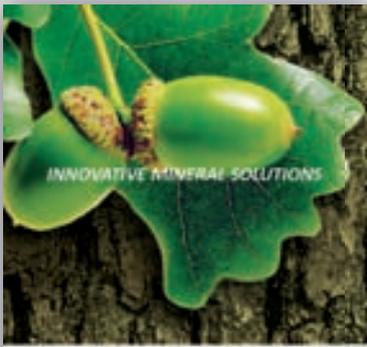


B-TRAXIM[®]

www.pancosma.com

PANCOSMA

INNOVATIVE MINERAL SOLUTIONS



CarboVet[®]

www.pancosma.com

PANCOSMA

INNOVATIVE ACID SOLUTIONS

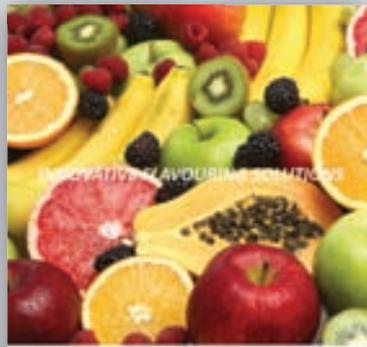


PanAcid

www.pancosma.com

PANCOSMA

INNOVATIVE FLAVOURING SOLUTIONS



TEK

www.pancosma.com

PANCOSMA



INNOVATING SOLUTIONS FOR ANIMAL NUTRITION

www.pancosma.com


Pancosma
 just makes sense

Einsatz phyto gener Zusatzstoffe in der Milchfütterung auf zwei landwirtschaftlichen Betrieben über einen Zeitraum von 12 Monaten

Heidi Schmidt¹, Leonhard Durst¹ und Jörg Rühle²

¹ Hochschule Weihenstephan-Triesdorf

² DSM Nutritional Products

Einleitung

In der Milchviehfütterung wird zunehmend der Einsatz phyto gener Zusatzstoffe empfohlen, um die Leistung und die Futtermittelaufnahme der Milchkühe zu verbessern. Daneben werden die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe auch zur Verminderung der Methanproduktion bzw. zur Stabilisierung der Pansenfunktion angeboten. In der Praxis sind diese Effekte häufig nur sehr schwer nachzuprüfen. Daher sollte in einem Langzeitversuch (1 Jahr) der Einsatz von phyto genen Zusatzstoffen (CRINA[®] Ruminants – DSM Nutritional Products) auf 2 landwirtschaftlichen Betrieben mit vergleichbarem Leistungsstand überprüft werden.

Material und Methoden

Der Fütterungsversuch wurde auf 2 landwirtschaftlichen Betrieben mit durchschnittlich 103 (Betrieb A) bzw. 86 (Betrieb B) Milchkühen durchgeführt. In Betrieb A setzte sich die Herde aus 69 % Fleckviehkühen (= FV) und 31 % Deutsche Holstein (= DH) und in Betrieb B aus 83 % FV, 15 % DH sowie 2 % sonstigen zusammen. Vor Versuchsbeginn wurden die Kühe beider Herden jeweils nach Vorjahresleistung und Anzahl Laktationen bzw. die Jungkühe, die während des Versuchszeitraumes erstmalig abkalbten, nach Mutterleistung der Kontrollgruppe bzw. Versuchsgruppe zugeteilt. Die Versuchsdauer betrug 12 Monate. Als Parameter wurde monatlich die Milchleistung, die Milch Inhaltsstoffe (Fettgehalt, Eiweißgehalt, Laktosegehalt, Harnstoffgehalt, Somatische Zellen) sowie die Fruchtbarkeitsparameter Günstzeit und Besamungsindex erfasst. Die angebotenen Futtermittel wurden regelmäßig alle 2 Monate, sowie bei einem Silagewechsel auf ihren Nährstoffgehalt untersucht. Zusätzlich wurde eine Proteinfractionierung durchgeführt.

Die Haltung der Milchkühe erfolgte in Boxenlaufställen auf Betrieb A in einem Außenklimastall und auf Betrieb B in einem Warmstall jeweils mit Spaltenboden. Jedem Tier stand eine Liegebox zur Verfügung; ebenso standen auf beiden Betrieben ausreichend Fressplätze zur Verfügung, so dass alle Kühe gleichzeitig fressen konnten. Die Wasserversorgung erfolgte über ausreichend Trog- und Beckentränken.

Die aufgewerteten Grundfüttermischungen wurden einmal täglich hergestellt und den Tieren dann zur freien Aufnahme während des gesamten Tages vorgelegt. Die Zusammensetzungen der aufgewerteten Futtermischungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Aufgrund der Gegebenheiten der Praxisbetriebe konnte keine Trennung der Kontroll- und Versuchsgruppe vorgenommen werden, so dass die mittlere Futtermittelaufnahme aus den aufgewerteten Grundfütterungen jeweils nur für beide Gruppen gemeinsam kalkuliert werden konnte. Auf Betrieb A wurde eine mittlere Trockenmasseaufnahme aus der aufgewerteten Ration von durchschnittlich 17,9 kg und auf Betrieb B von 13,0 kg ermittelt. Daraus ergibt sich auf Betrieb A eine mittlere Grobfuttermittelaufnahme von 13,8 kg TM und auf Betrieb B von 11,8 kg TM. Mit dieser Futtermittelaufnahme konnte der Bedarf für eine tägliche Milchleistung von 21 kg

(Betrieb A) bzw. 12,5 kg (Betrieb B) abgedeckt werden. Die aufgenommenen Nährstoffmengen wurden aus den durchschnittlichen verzehrten Futtermengen sowie den Ergebnissen der Nährstoffanalysen kalkuliert.

Tabelle 1: Zusammensetzung der aufgewerteten Grundfuttrationen in % der Trockenmasse, mittlere Nährstoffgehalt der Rationen, kalkulierte Futteraufnahme der Kühe sowie mittlere Milcherzeugungswerte

Futtermittel	Betrieb A	Betrieb B
Maissilage	38,5	51,7
Grassilage	27,2	22,2
Heu	6,2	2,5
Stroh	0,9	4,7
Konzentratfuttermittel	23,1	18,8
Biertreber	4,1	-
Mittlere TM-Aufnahme, kg / Kuh u. Tag	17,9	13,0
NEL, MJ/kg TM	6,36	6,21
nXP, g/kg TM	145,3	138,1
UDP5, % des XP	24,29	23,2
XF, g/kg TM	216,4	218,4
Stärke, g/kg TM	140,0	227,9
ADF, g/kg TM	240,9	236,6
NDF, g/kg TM	431,3	438,4
Milcherzeugungswert, kg Milch/ Tag		
- aus Energie	21,0	12,5
- nXP	24,0	15,0

Bei Milchleistungen über den Milcherzeugungswerten (kalkuliert auf der Basis Energie) erhielten die Kühe leistungsabhängig Kraftfuttergaben über eine Transponderstation. Auf beiden Betrieben wurden die Konzentratfuttermittel aus hofeigenem Getreide (Gerste, Triticale, Weizen, Körnermais) Soja- und Rapsextraktionsschrot sowie Mineralfuttermitteln selbst hergestellt. Die maximalen Kraftfuttermengen betragen auf Betrieb A 10,31 kg TM und auf Betrieb B 11,9 kg TM (einschließlich der KF-Mengen in den aufgewerteten Grundfuttrationen). Die mittleren Kraftfuttermengen unterschieden sich nicht zwischen den beiden Versuchsgruppen. Dadurch ergab sich ein maximaler Kraftfutteranteil in den Rationen von 42,8 % (Betrieb A) bzw. von 50,3 % (Betrieb B). Dies führt dazu, dass auf Betrieb B eine um bis zu 1,7 kg höhere Stärkeaufnahme erreicht wurde.

Die zu prüfende Substanz CRINA Ruminats[®] ist ein standardisierte Mischung unter anderem aus den Wirkstoffen Thymol, Eugenol, Vanillin und sollte mit 1 g pro Kuh und Tag den Versuchstieren verfüttert werden. Um die Dosiergenauigkeit zu erhöhen, wurde der Wirkstoff in einem Anteil von 1 % mit Weizenkleie, Melasseschnitzeln und Zuckerrübenmelasse vermischt und pelletiert. So konnte dieses Ergänzungsfuttermittel mit 100 g pro Tiere und Tag nur den Versuchstieren über eine Mikrokomponentenanlage in der Kraftfutterstation mit dem Leistungskraftfutter zugeteilt werden. Das Versuchsfutter wurde von allen Tieren ohne Probleme aufgenommen.

Die statistische Auswertung erfolgte zunächst über eine dreifaktorielle Varianzanalyse mit den Effekten Versuchsfaktor, Betrieb, Laktationsnummer. Da sich dabei ein erheblicher Betriebseffekt ergab, der den Versuchseffekt überdeckte, erfolgte die Auswertung für jeden Betrieb getrennt mit einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (Versuchsfaktor, Laktationsnummer). Die getrennte Auswertung der beiden Betriebe wird bei den Ergebnissen dargestellt. Ebenso wurden die erstlaktierenden Tiere getrennt ausgewertet. Auf eine Darstellung der Ergebnisse wird verzichtet, da auf Betrieb A die Leistung der Versuchstiere aufgrund nicht versuchsbedingter Ursachen erheblich unter derjenigen der Kontrolltiere

lag und somit nicht als Effekt des Futterzusatzes zu werten ist. Die Auswertung wurde mit Hilfe der Statistical Analysis Software 9.2 (SAS Institute Inc., NC USA, 2008) durchgeführt. Dabei wurde das folgende statistische Modell zugrunde gelegt: $y = \mu + a_i + \beta_j + a_i\beta_j + \varepsilon_{ijk}$ (μ = Gesamtmittelwert, a = Faktor Futtermischung; β = Laktationsnummer, $a_i\beta_j$ = Interaktion der beiden Versuchsfaktoren; ε = zufälliger Einfluss). Ergab sich ein p-Wert von $< 0,1$ wurden die Gruppenunterschiede nach EFSA (2011) als statistisch signifikant bewertet und durch unterschiedliche Hochbuchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse und Diskussion

Auf beiden Betrieben lag die mittlere Tagesmilchleistung während des gesamten Versuchszeitraums mit mehr als 30 kg auf einem sehr hohen Niveau. Auf Betrieb A lag das durchschnittliche Tagesgemelk bei 31,1 (Kontrolle = K) bzw. 30,9 kg (Versuchs=V) je Tier und Tag. Die Milchinhaltsstoffe (V: MilCHFett + 0,00 %, Milcheiweiß+ 0,01 %, Laktose +0,02 %), die Harnstoffgehalte (V: + 6 mg/kg) sowie der Gehalt an Somatischen Zellen (V: – 7000/ ml) waren nahezu identisch.

Auf Betrieb B führt dagegen die Zulage von CRINA Ruminants® zu einer signifikanten Erhöhung der täglichen Milchmenge um + 2,04 kg ($p = 0,0029$) pro Kuh und Tag. Während der MilCHFettgehalt bei der Versuchsgruppe um 0,09 % ($p = 0,0830$) und des Milcheiweißgehaltes um 0,04 % ($p = 0,1763$) vermindert war, konnte ein leichter Anstieg des Laktosegehaltes um 0,03 % ($p = 0,0454$) festgestellt werden. Die CRINA Ruminants®-Zulage führte auf diesem Betrieb zu einem signifikanten Rückgang des MilChharnstoffgehaltes um 9 mg je Liter ($p = 0,0418$).

Tabelle 2: Leistungsparameter der Kühe ab 2. Laktation

Parameter	Betrieb A		Betrieb B	
	Kontrolle	CRINA® Ruminants	Kontrolle	CRINA® Ruminants
Mittlere Anzahl gemolkener Tiere pro Monat*), n	43,6	38,4	30,3	33,6
Mittlerer Laktationstag	175	167	162	165
Mittlere Laktationszahl	3,27	3,15	3,60	3,79
Milchmenge, kg	31,10	30,93	32,15 ^a	34,19 ^b
MilCHFett, %	4,29	4,30	4,14 ^a	4,05 ^b
Milcheiweiß, %	3,56	3,57	3,61	3,57
Laktose, %	4,73	4,75	4,72 ^a	4,75 ^b
MilCHFett, kg/Tag	1,31	1,32	1,32 ^a	1,36 ^b
Milcheiweiß, kg/Tag	1,08	1,09	1,14 ^a	1,20 ^b
Zellzahl, in 1000 je ml	187	180	185	183
Harnstoff, mg/Liter	233	239	261 ^a	252 ^b
ECM, kg	32,05	32,15	32,83 ^a	34,34 ^b
Güstzeit, Tage	87	98	63	75
Besamungsindex	1,93	2,03	1,95	1,73

*) Anzahl Tiere in 2. oder höherer Laktation

Bei den Fruchtbarkeitsparametern wurde auf beiden Betrieben eine Verlängerung der Güstzeit um 11 (Betrieb A) bzw. um 12 Tage (Betrieb) ermittelt. Auch beim Besamungsindex wurde auf Betrieb A eine Erhöhung um 0,1 Besamungen je Trächtigkeit ermittelt. Im Gegensatz dazu war dieser Parameter bei Betrieb B um 0,22 Einheiten vermindert. Es konnte jedoch bei beiden Parametern kein Effekt des Versuchsfaktors ermittelt werden.

Ein Effekt auf die Futteraufnahme der aufgewerteten Futtermischungen war aufgrund der Gegebenheiten nicht zu ermitteln. In einem Fütterungsversuch mit diesem Produkt (Dosierung 0,75 g je Tier und Tag) konnten BENCHAAAR et al. (2007) keine Effekte auf die Futteraufnahme aber auch auf die Leistungsparameter bei unterschiedlicher Grundfutterbasis (Luzernesilage versus Maissilage) feststellen. Allerdings führte die Zulage zu einer Erhöhung des Pansen-pH-Wertes um 0,15 Einheiten. Im Gegensatz dazu konnten SCHMIDT et al. (2004) und KUNG et al. (2008) bei Dosierungen dieses Produktes von bis zu 1,2 g eine Steigerung der Futteraufnahme um bis zu 1,9 kg TM feststellen.

Der wesentliche Unterscheid in der Nährstoffaufnahme zwischen beiden Betrieben bestand in der um bis zu 1,7 kg höheren Stärkeaufnahme pro Tier und Tag auf Betrieb B. Damit ergibt sich in der Gesamtration ein Anteil von maximal 33,6 % an Kohlenhydraten (Zucker und Stärke). Aufgrund der hohen Zufuhr an Nicht-Faser-Kohlenhydraten sind niedrigere pH-Werte im Pansen zu erwarten. Auf Probleme mit erniedrigten Pansen-pH-Werten deutet der mit 30 % (K) bzw. 25 % (V) relativ hohe Anteil an Tieren hin, die bei einem MilCHFettgehalt von < 3,5 % einen Fett-Eiweiß-Quotienten von weniger als 1,1 aufwiesen (TAFPE, 2010). Allerdings spricht der um 5 % geringere Anteil in der Versuchsgruppe auf Betrieb B für eine Stabilisierung des Pansen-pH-Wertes durch die phyto-genen Substanzen wie es BENCHAAAR et al. (2007) zeigen konnten. Auf Betrieb A konnte bei diesem Parameter keine Veränderung bei der Versuchsgruppe festgestellt werden.

Von MCINTOSCH et al. (2003) konnten an Tieren mit Pansenfisteln Effekte auf den Protein-stoffwechsel zeigen. In ihrer Untersuchung war die Desaminierung von Aminosäuren um 9 % vermindert. Zusätzlich stellten sie eine Reduzierung bestimmter Mikroorganismen fest, die von ihnen als Hyer-Ammoniak-Produzenten klassifiziert wurden. Da in Betrieb B in der Versuchsgruppe mit 1,20 kg ein um 0,06 kg erhöhter Milcheiweißtrag bei gleichzeitig etwas verminderten Harnstoffgehalten auftraten, könnten diese beiden Effekte dafür die Ursache sein.

Schlussfolgerung

Da auf Betrieb A weder ein Effekt auf die Milchmenge, auf die Milch-inhaltsstoffe noch auf den FEQ festzustellen war, scheint ein Zusammenhang mit der Versorgung bzw. der Abbauraten und -geschwindigkeit der Nicht-Faser-Kohlenhydrate und den Proteinumsetzungen im Pansen zu bestehen. Der phyto-gene Zusatzstoff CRINA[®] Ruminants scheint sich daher besonders bei hohen Anteilen an leicht umsetzbaren Kohlenhydraten in der Ration positiv auf die Milchleistung und die MilCHFett- und Milcheiweißtrag auszuwirken.

Literatur

BENCHAAAR C., PETIT H.V., BERTHIAUME R., OUELLET D.R., CHIQUETTE J., CHOUINARD P.Y., 2007: Effects of Essential Oils on Digestion, Rumen Fermentation, Rumen Microbial Populations, Milk Produktion and Milk Composition in Dairy Cows fed Alfalfa Silage or Corn Silage, *Journal of Dairy Science* 90, 886-897

EFSA, 2011: Technical Guidance Tolerance and efficacy studies in target animals. *EFSA Journal* 9 (5), 2175

KUNG JR L., WILLIAMS P., SCHMIDT R. J., HU W., 2008: A blend of essential oils used as an additive to alter silage fermentation or Used as a feed additive for lactating dairy cows, *Journal of Dairy Science* 91, 4793-4800

MCINTOSCH F. M., WILLIAMS P., LOSA R., WALLACE R. J., BEEVER D. A., NEWBOLD C.J., 2003: Effects of essential oils on ruminal microorganisms an their protein metabolism, *Applied and Environmental Microbiology* 69, 5011-5014

SAS, 2003: SAS User´s guide. Statistics, ver8.e, Statistical Analysis Ssteme Insitute. Inc. Cary NC

SCHMIDT J., KLEINSCHMIT D.H., LADD J.M., LYNCH J.E., KUNG L. JR., WILLIAMS P.G., LOSA R., 2004: The effect of essential plant oils on milk production and composition from lactating dairy cows and on silage fermentation and aerobic stability of corn silage, *Journal of Dairy Science* 87 (Suppl.1), 129 (Abstr.)

TAFFE B., 2010: Grundlagen und Überlegungen zur Auswertung von Milchkontrolldaten bei der Risikoanalyse von Stoffwechselbelastungen und Mastitis, TGD Sachsen-Anhalt, URL: http://www.tgdsachsen-anhalt.de/rind/fachbtrg/014/20101012_ITB_Vortrag.pdf

Autorenanschrift

Heidi Schmidt, Prof. Dr. Leonhard Durst
Hochschule Weihenstephan-Triesdorf
Steingruber Straße 2
91746 Weidenbach
E-Mail: leonhard.durst@hswt.de



*No one
knows more
about Vitamins*

DSM Vitamin Supplementation Guidelines 12th edition out now!

DSM Vitamin Supplementation Guidelines have been the industry's key reference tool on Optimum Vitamin Nutrition™ (OVN™) levels since the appearance of the first edition in 1958.

Download our free app



iPhone



Android

DSM Nutritional Products Ltd
PO Box 2676, CH-4002 Basel, Switzerland
www.ovn-dsm.com
www.dsmnutritionalproducts.com

HEALTH • NUTRITION • MATERIALS

OVN™ ranges are based on extensive academic and industry research, published requirements, as well as practical and commercial experience taking into account the improvements in genetic stock.

OVN™ is a cost-effective vitamin supplementation in which the level of supplementation safely meets – but does not exceed – the target for optimum health, welfare and productivity of today's farmed animals.

Effects of capsicum and turmeric oleoresins on performance, diarrhea, gut morphology, immune and inflammatory status of weaned pigs infected with a pathogenic *E. coli*

Y. Liu¹, M. Song¹, T.M. Che¹, J.A. Soares¹, D. Bravo², C.M. Maddox¹, J.E. Pettigrew¹ and C. Oguey²

¹ University of Illinois, Urbana, USA

² Pancosma S.A. Le Grand –Saconnex, Geneva, Switzerland

Introduction

Plant extracts are known to have antimicrobial (Baydar et al., 2004), anti-inflammatory (Lang et al., 2004), antioxidant (Dundar et al., 2008), and antiviral effects (Sökmen et al., 2004). Previous studies reported that the supplementation of phytonutrients improved growth performance, gut health, or reduced disease incidence of weaned pigs (Manzanilla et al., 2004; Michiels et al., 2010; Sads and Bilkei, 2003). After weaning, *Escherichia coli* (*E. coli*) infection is an important cause of diarrhea, death and reduced performance in weaned pigs. The objectives of this study were to investigate the effects of feeding capsicum or turmeric oleoresins on performance, diarrhea, gut morphology, immune and inflammatory status of weaned pigs challenged with a pathogenic *E. coli*.

Experimental procedure

A total of 48 weaned piglets (6.3 kg initial BW) were randomly assigned to treatments organized in a randomized complete block design. Pigs were housed in the individual pens for 15 days (4 days before and 11 days after the first *E. coli* challenge). Piglets had *ad libitum* access to feed and water. The treatments were in a 2 × 3 factorial arrangement (with or without *E. coli* challenge; 3 dietary treatments). There were 8 replicates per treatment.

The first factor was the infection or not of the pigs, via oral inoculation of 10¹⁰ cfu per 3 mL F-18 *E. coli*/day for 3 consecutive days from day 0 post-infection. The second factor had three levels: a basal diet (control), and the addition of 10 ppm of capsicum oleoresin (capsicum) or 10 ppm of turmeric oleoresin (turmeric) to the control. Capsicum and turmeric oleoresins were standardized respectively to 6% capsaicinoids and 98% curcuminoids. The control diet was formulated to meet or exceed NRC (1998) estimates of requirements of weaned pigs.

The procedures for this study were adapted from the methods of Song et al. (2011). Diarrhea score of each pig was assessed visually each day with a score from 1 to 5 (1 = normal feces, 2 = moist feces, 3 = mild diarrhea, 4 = severe diarrhea, and 5 = watery diarrhea). Frequency of diarrhea was calculated by counting pig days with diarrhea score of 3 or higher. After inoculation, fecal samples were collected from the rectum of each pig to test for β-hemolytic and total coliforms. Blood samples were collected from the jugular vein of each pig before *E. coli* challenge (day 0) and day 5 and 11 post infection. Total and differential white blood cell counts, and cytokines and acute phase proteins were measured. Growth performance (ADG, ADFI, and G:F) was measured for each interval from day 0 to 5, day 5 to 11, and day 0 to 11. One-half of the pigs were euthanized on day 5 post infection at near the peak of infection and the remainder at the end of experiment (day 11 post infection) during recovery. Segments from the jejunum, ileum and colon were collected for histological analysis.

Data were analyzed using the Mixed procedure of SAS. The statistical model included effects of *E. coli* challenge, diet, and their interaction as fixed effects. Block was a random effect. The Chi-square test was used for the frequency of diarrhea. Probability values of $P < 0.05$ were considered to be significant.

Results

First, the supplementation in capsicum or turmeric had no effect on culture scores of feces (β -hemolytic coliforms).

In the absence of infection, the supplementation of capsicum and turmeric did not affect piglet performance. ($P > 0.05$), but reduced diarrhea score up to day 5 and global diarrhea frequency (respectively 20%, 4% and 9% in control, capsicum and turmeric groups). The plant extracts tested had no effect on gut morphology, total and differential white blood cells and serum cytokines and acute phase proteins except haptoglobin which was reduced at day 5 by the supplementation. Pigs fed capsicum had lower ($P < 0.05$) haptoglobin than those fed turmeric on day 5 (figure 1).

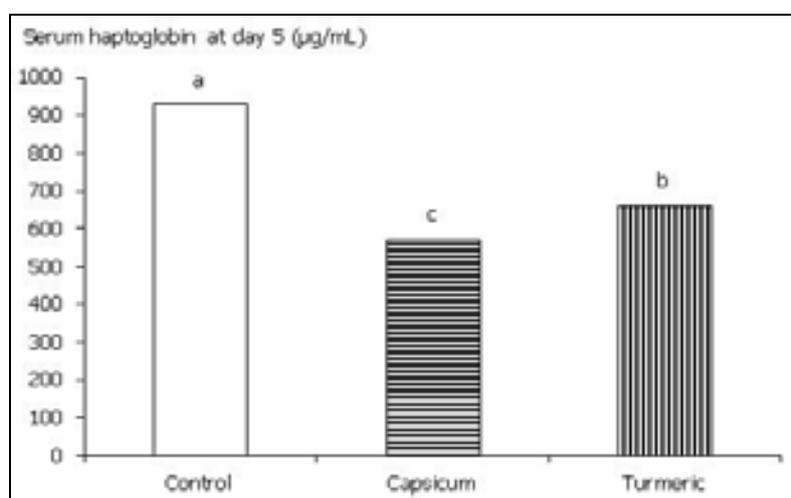


Figure 1: effect of the treatments on serum haptoglobin at day 5 in sham piglets (a, b, c, $P < 0.05$)

The *E. coli* challenge reduced average daily gain and gain to feed ratio from day 0 to 5 and day 0 to 11 after infection. Diarrhea score from day 3 to 11, diarrhea frequency, total white blood cells, plasma TNF- α at days 5 and 11, haptoglobin at days 5 and 11 were increased by the challenge. Infected piglets exhibited reduced jejunum and ileum villi heights at day 5, jejunum villi: crypt ratio at day 11 and increased jejunum crypt depth at day 11 compared to sham animals.

In challenged animals, the supplementation of capsicum or turmeric did not affect growth performance ($P > 0.05$), but reduced diarrhea score ($P < 0.05$) from d 3 to 5 and d 9 to 11, and the frequency of diarrhea (respectively 40%, 26% and 16% for control, capsicum and turmeric groups, $P < 0.05$). Piglets fed turmeric had lower diarrhea score between day 9 and 11 compared to those fed capsicum ($P < 0.05$). Plant extract supplementation decreased ($P < 0.05$) total WBC (figure 2). This reduction was more important with capsicum than with turmeric (respectively -31.3% and -13.3% at day 5).

The plant extract supplementations in the challenged group reduced ($P < 0.05$) serum TNF- α at day 5 (figure 3).

Only capsicum reduced haptoglobin 5 days post infection compared to the control (figure 4).

Finally, challenged piglets fed capsicum or turmeric tended to increase ($P = 0.093$) jejunum villi height and increased ($P < 0.05$) ileal villi height, compared animals fed the control diet.

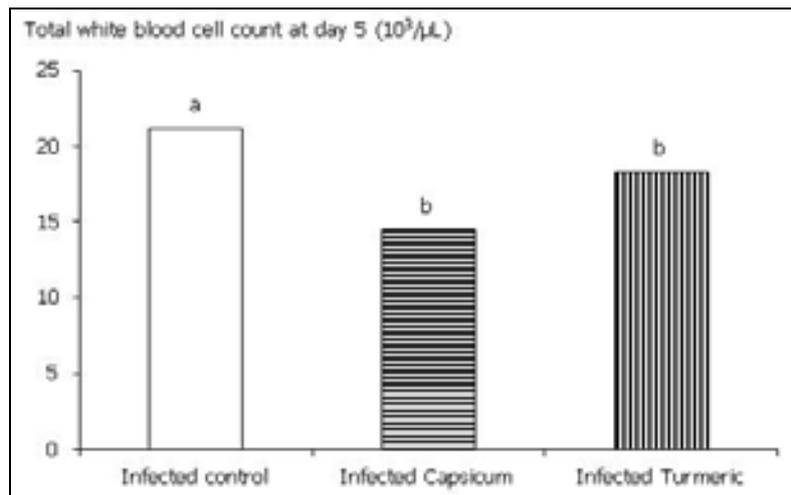


Figure 2: effect of the treatments on total white blood cell count at day 5 in infected piglets (a, b, $P < 0.05$)

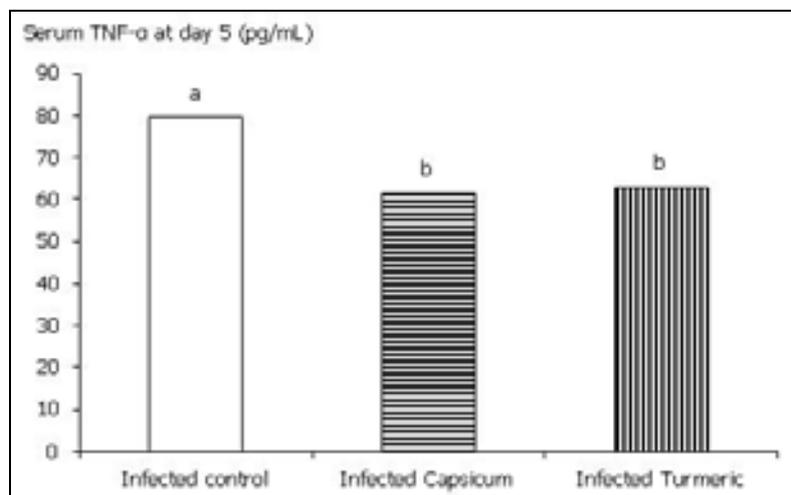


Figure 3: effect of the treatments on serum TNF- α at day 5 in infected piglets (a, b, $P < 0.05$)

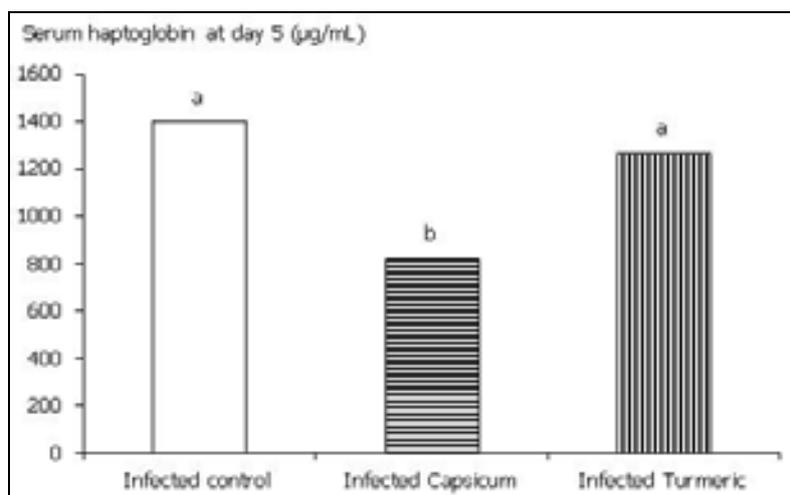


Figure 4: effect of the treatments on serum haptoglobin at day 5 in infected piglets (a, b, $P < 0.05$)

Discussion

The results reported here indicate that feeding plant extracts to weaned pigs challenged with F18 *E. coli* improved gut health as indicated by increasing villus height of the small intestine. In addition, the supplementation of the PE to the *E. coli* challenged pigs reduced diarrhea and inflammation caused by the *E. coli* challenge, as indicated by reducing white blood cells, pro-inflammatory cytokines, and acute phase proteins.

The reduction of diarrhea by capsicum and turmeric oleoresins cannot be linked to their antimicrobial properties. Effectively, the supplementation level of 10 ppm was much lower than the concentrations known to inhibit bacterial growth. This was confirmed by the absence of effect of both plant extracts on β -hemolytic coliforms. This suggests that the reduction of diarrhea by these extracts can be linked to their beneficial effect on gut health (Karmouty-Quintana et al., 2007) or on gastrointestinal immune modulation (Manzanilla et al., 2004; Michiels et al., 2010). This last hypothesis is supported by the reductions of white blood cell counts and serum TNF- α and haptoglobin in piglets fed capsicum or turmeric. Further studies are needed to investigate the mechanisms underlying these effects.

This experiment clearly shows that low levels of capsicum and turmeric oleoresins can be used in pig diets to maintain pig health, especially alleviating post-weaning diarrhea. Therefore, the low supplemental level of capsicum and turmeric oleoresins may help swine producers to save feed and medication costs.

References

- Baydar, H., O. Sađdiđ, G. Özkan, and T. Karadođan. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15:169-172
- Dundar, E., E. G. Olgun, S. Isiksoy, M. Kurkuoglu, K. H. C. Baser, and C. Bal. 2008. The effects of intra-rectal and intra-peritoneal application of *Origanum onites* L. essential oil on 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in the rat. *Exp. Toxicol. Pathol.* 59:399-408
- Jamroz, D., T. Wartelecki, M. Houszka, and C. Kamel. 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. *J. Anim. Physiol. An. N.* 90:255-268
- Karmouty-Quintana, H., C. Cannet, R. Sugar, J. R. Fozard, C. P. Page, and N. Beckmann. 2007. Capsaicin-induced mucus secretion in rat airways assessed *in vivo* and non-invasively by magnetic resonance imaging. *Br. J. Pharmacol.* 150:1022-1030

Lang, A., M. Lahav, E. Sakhnini, I. Barshack, H. H. Fidder, B. Avidan, E. Bardan, R. Hershkoviz, S. Bar-Meir, and Y. Chowers. 2004. Allicin inhibits spontaneous and TNF- α induced secretion of proinflammatory cytokines and chemokines from intestinal epithelial cells. *Clin. Nutr.* 23:1199-1208

Manzanilla, E. G., J. F. Perez, M. Martin, C. Kramel, F. Baucells, and J. Gasa. 2004. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 82:3210-3218

Michiels, J., J. Missotten, A. Van Hoorick, A. Obyn, D. Fremaut, D. De Smet, and N. Dierick. 2010. Effects of dose and formulation of carvacrol and thymol on bacteria and some functional traits of the gut in piglets after weaning. *Arch. of Ani. Nutr.* 64:136-154

Sads, O. R. and G. Bilkei. 2003. The effect of oregano and vaccination against Glasser's disease and pathogenic *Escherichia coli* on postweaning performance of pigs. *Irish Vet. J.* 56:611-615

Sökmen, M., J. Serkedjieva, D. Daferera, M. Gulluce, M. Polissiou, B. Tepe, H. A. Akpulat, F. Sahin, and A. Sokmen. 2004. *In vitro* antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J. Agric. Food Chem.* 52:3309-3312

Song, M., Y. Liu, J. A. Soares, T. M. Che, O. Osuna, C. W. Maddox, and J. E. Pettigrew. 2011. Effects of dietary clays on diarrhea of weaned pigs experimentally infected with a pathogenic *E. coli*. *J. Anim. Sci.* 86(E-Suppl. 2):40(Abstr.)

Corresponding author

Clémentine Oguey
PANCOSMA SA
Voie des Traz 6
1218 Le Grand Saconnex, Switzerland
E-mail: clementine.oguey@pancosma.ch

Effects of a saponin containing phytogetic feed additive on performance and ammonia- and odor emissions in growing-finishing pigs

Martin Veit¹, Eduard Zentner², Karola R. Wendler¹ and Irene Mösenbacher-Molterer²

¹ Delacon Biotechnik, Steyregg, Austria

² AREC Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Austria

Introduction

Ammonia is one of the major pollutants from livestock production. Thus, directives and regulations have been implemented to decrease ammonia emissions. Besides cost intensive techniques for spreading of slurry and air washers, feeding strategies such as phase feeding and feed additives showed great potential to reduce ammonia emissions while providing economic benefits to the farmer. There are various techniques listed in the so called "Best Available Technique" – List (BAT), which is under revision at the moment. Besides ammonia emission reduction, effects on animal welfare, economics and applicability have to be considered for getting listed as BAT.

Feed additives containing saponins have been reported to reduce ammonia concentrations (Veit et al. 2011^a; Veit et al. 2010; 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. There are only few studies available and current results reveal that within saponin containing substances only few have the potential to reduce ammonia formation.

Compared to techniques like air cleaners or slurry spreading, phytogetic feed additives can already reduce the ammonia production/concentration at animal level, which means an increase of animal welfare.

The objective of the current study was to investigate the effects of the phytogetic feed additive FRESTA[®] F Plus (essential oils, herbs, spices and saponins) on reduction of ammonia (NH₃) and odor emissions as well as concentrations in the barns in growing-finishing pigs. The data on ammonia concentrations have been presented by Veit et al. 2011^b at the KTBL-Symposium on emissions from animal production.

Materials and methods

From April until June 2011, a total of 32 female (Large White × Landrace) × Pietrain hybrids were housed in two identical barns. Both barns were separated into two pens with fully slatted floors, each for 8 fattening pigs from 30 to 110 kg live weight. Animals were distributed by equal weight into two treatment groups. Average weight at housing and start of measurement period are shown in Table 1. During an adaptation phase from housing until trial start (14 days), the control group was fed the basal diets with placebo while the treatment group received the basal diet plus 150 ppm of the phytogetic feed additive Fresta[®] F Plus (FF+), developed by Delacon Biotechnik GmbH, Austria. The grower diet was fed until trial day 35, the finisher diet was fed from day 36 to 78. Analyzed nutrients are shown in table 2.

Table 1: Means of body weights and standard deviations at housing and trial start (kg)

	Control	FF+
Housing		
Body weight	32.3	32.3
SD	2.19	2.05
Trial start		
Body weight	37.9	39.0
SD	2.86	2.89

Table 2: Nutrients in starter and finisher feed (%)

Parameter	Grower	Finisher
Crude Protein	20.7	18.71
Crude Fiber	3.27	3.32
Crude Fat	3.83	3.53
Ca	0.83	0.87
P	0.50	0.52
Na	0.24	0.24

Individual body weight was recorded weekly, while feed intake was recorded daily per pen. Temperatures 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. Ammonia concentrations were continuously measured with the photo-acoustic field gas monitor INNOVA 1412 (Lumasense Technologies), at tree measurement points per barn and for emissions in the chimneys. The ventilation rates were recorded with measurement ventilators. For the evaluation of the odor reducing effect of the additive an olfactometer (Mannebeck, Germany) was used. Samples for odor measurement were taken 6 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. The odor substance concentration of the exhaust air sample is determined by dilution 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 led through a flow meter. This mixture is provided to the test subjects through nose masks for qualitative 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).

The emissions of ammonia, odor and carbon dioxide were calculated per kg of body weight gain (BWG), which was standardized for 80 kg per fattening pig.

Performance data and ammonia concentration data at animal level were analyzed using SAS procedure general linear model, the significance level was set at $p < 0.05$.

Results and discussion

Temperature and humidity were at the same level in both barns (Table 2), which is crucial to determine the ammonia reducing effect of feed additives as these parameters affect the ammonia formation (Figure 2 and 3). Furthermore the ventilation rates have to be determined for calculations of emission. The data in table 2 show that there was no difference between the groups, but during the finisher phase ventilation rates were higher as outside temperatures were higher too.

Table 3: Temperatures (°C), humidity (%) and ventilation rates (m³/h)

	Temperature (°C)		Humidity (%)		Ventilation rate (m ³ /h)		Temperature (°C)
	Control	FF+	Control	FF+	Control	FF+	Outside
Grower	24.6	24.5	60.7	59.8	332	329	11.5
Finisher	24.9	24.9	56.8	55.2	554	550	16.4
Total	24.7	24.7	58.2	57.5	454	451	13.9

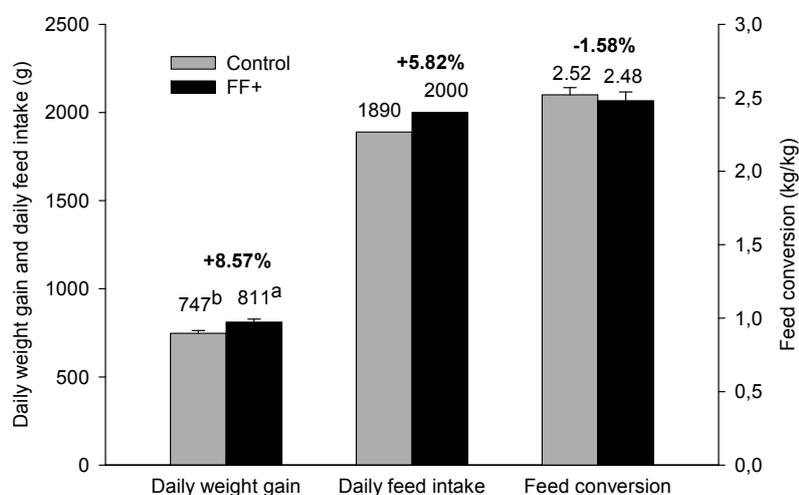


Figure 1: LS-Means of daily weight gain (g), daily feed intake (g) and feed conversion (kg/kg) from day 1 to 78.

Table 1 shows that weight gain was already improved with FF+ during the adaptation phase. The statistical analysis of performance data from trial start to trial end (day 1-78) showed a significant increase of body weight gain by 8.6% in the FF+ group. The feed intake was increased by 5.8% which results in an improved feed conversion of 1.6% for the total trial period. From day one to 35 the feed conversion was improved by almost 4%.

Emissions of ammonia, odor units and carbon dioxide were calculated per kg BWG using the concentrations measured in the exhaust chimneys and associated ventilation rates. As shown in figure 2, concentrations of ammonia were highly influenced by ventilation rates. In the finisher period the concentrations were lower as ventilation rates were higher (Table 2). After correction for different ventilation rates, emissions in g/kg BWG were at a similar level in grower and finisher period. The ammonia concentrations at animal level were reduced by 21.5% (Figure 2) and the emissions per kg BWG were reduced by 19.3% or 210 g ammonia through FF+. Emissions of carbon dioxide (g/kg BWG) and odor units in mega odor units (MOU)/kg BWG were reduced by 7.1% and 32.5% respectively (Figure 4 and 5).

To receive data comparable to other ammonia emission reducing techniques, the costs of FF+ per fattening pig and per kg ammonia were calculated at a standardized weight gain of 80 kg. The results show that with FF+ the costs per animal were reduced by 0.78 € and per kg ammonia reduction the costs were reduced by 3.73 €. For air washing systems the costs per kg ammonia reduction are on average 6.60 € (Wulf et al., 2011).

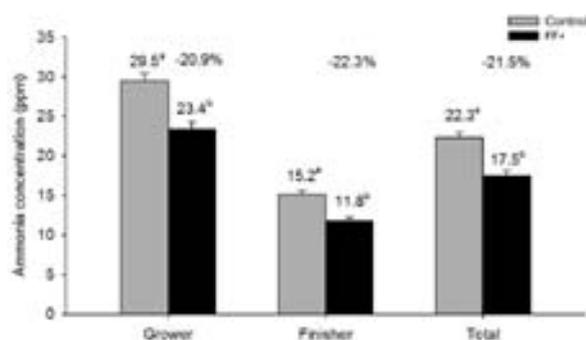


Figure 2: Ammonia concentrations at animal level (ppm)

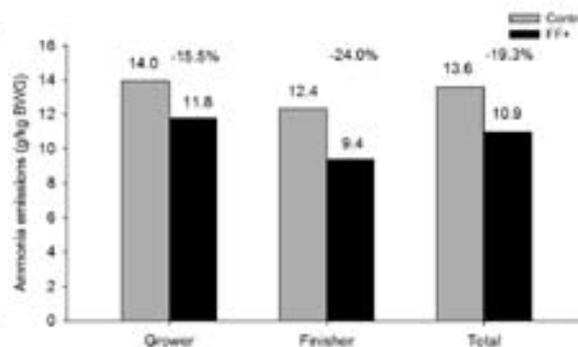


Figure 3: Ammonia emissions (g/kg BWG)

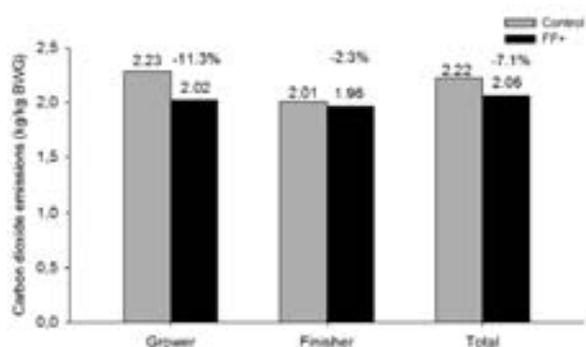


Figure 4: Carbon dioxide emissions (kg/kg BWG)

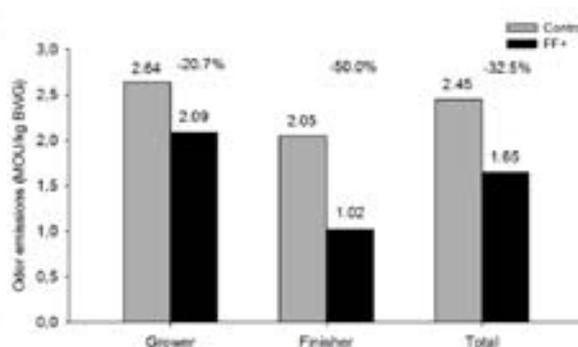


Figure 5: Odor Emissions (MOU/kg BWG)

Conclusions

Results of the current study show that not only ammonia concentrations but also ammonia emissions can substantially be reduced by the application of Fresta® F Plus. Due to improved performance parameters the ammonia emission reduction results in a profit of 3.73 €/kg ammonia compared to costs of 6.6 €/kg ammonia with air washing systems. Furthermore odor emissions and carbon dioxide emissions can be reduced when FF+ is applied, which leads to improved health and welfare conditions for animals and humans.

References

- 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., A. Mader, L. Cypriano, I. Piccini, A. M. Gabbi and D. Zanoni. (2010): Impact of a phytogetic feed additive on performance and ammonia emission in piglets. 9. BOKU-Symposium Tierernährung. Tagungsband – Eiweiß in der modernen Tierernaehrung - Bedarf, Qualitaet, neue (alte) Futtermittel. 220-226
- Veit, M., E. Zentner, L. Jungbauer and K. R. Wendler. (2011)^a: Effects of a phytogetic feed additive on reduction of ammonia and odor concentrations in growing-finishing pigs. 10. Boku-Symposium Tierernährung. Tagungsband - Eiweiß in der modernen Tierernährung. 149-154
- Veit, M., K.R. Wendler, E. Zentner and I. Mösenbacher-Molterer. (2011)^b: Reduction of ammonia concentration in growing-finishing pigs with Fresta® F Plus. *KTBL Schrift 491. Emissionen der Tierhaltung – Treibhausgase, Umweltbewertung, Stand der Technik.* 391-395

Wulf, S., R. Rössler, R. Vandr , B. Eurich-Menden and H. D hler. (2011): Kosten der Minderung von Ammoniakemissionen. KTBL Schrift 491. Emissionen der Tierhaltung – Treibhausgase, Umweltbewertung, Stand der Technik. 279-291

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. Poul. Sci. 7, 381-385

Zentner, E. (2007): Einsatz von phytoenen Futterzus tzen im Hinblick auf Ammoniakreduktion und t gliche Zunahmen in der Mastschweinehaltung. Bautagung Raumberg-Gumpenstein. Zukunftsorientierte Stallbaul sungen f r die Rinder- und Schweinehaltung. 19-24

Corresponding author

DI Martin Veit
R&D Species Manager Ruminants
Delacon Phytogetic Feed Additives
Weissenwolffstr. 14
A-4221 Steyregg
E-Mail: martin.veit@delacon.com

Meta-analysis of the effects of a Phytogetic Feed Additive on nutrient digestibility in broilers

Leopold Jungbauer and Karola R. Wendler

Delacon Biotechnik GmbH, Steyregg, Austria

Introduction

In broiler production, feed costs are crucial and account for 60-70% of the total costs. Due to the increasing demand of traditional ingredients of broiler diets for biofuels production, prices for raw materials have increased dramatically versus historical norms. In addition, the demand of GMO free production increases and thus the availability of GMO free protein sources with a good digestibility in poultry is limited. Thus, it is necessary to optimize broiler nutrition and especially nutrient utilization. Phytogetic feed additives (PFA) like Biostrong 510 (Delacon, Austria) have a high potential to improve nutrient digestibility in broilers and finally enhance profitability of broiler production. Phytogetic feed additives are plant-derived products used in animal nutrition to improve performance and health (Windisch et al. 2008). PFA can contain a variety of different compounds like herbs and spices and products derived thereof, mainly essential oils but also saponins, pungent substances and bitter substances. Besides quality of the feed, digestibility is influenced by the activity and amount of digestive enzymes and additionally by the surface in the gut. Studies have shown that feeding essential oils, spices or combinations stimulates the production of digestive enzymes and also their activity (Lee et al. 2003; Li et al. 2010; Platel and Srinivasan 2000). Additionally it was shown, that PFA have a positive effect on the absorption active surface in the gut by increasing villus height and decreasing crypt depth (Demir et al. 2003; Li et al. 2010).

The effects of PFA on nutrient digestibility and performance are mainly influenced by their composition and the amount of active substances. Nevertheless, trial results with the same PFA often could be confounded by variation in trial locations and housing conditions. Thus the objective of this meta-analysis was to examine an overall effect of the commercial phytogetic feed Biostrong® 510 additive on nutrient digestibility in broilers at an age of 21 days.

Materials and methods

This meta-analysis reviews a total of 11 digestibility trials at 6 different trial stations in several countries including Austria, Germany, Belgium, Malaysia, Taiwan, Czech Republic and USA. Selection of trials was based on 1) availability of raw data 2) trial design (negative control vs. treatment) 3) duration (21 days) 4) digestibility measurements (Ca, P, CP, XL) and 5) diet composition. A total of 2274 broilers were randomly allotted to 2 dietary treatments. Each treatment was replicated 6-11 times with 5-24 broilers per repetition. Birds of the control groups were fed a basal diet based on corn, soy bean meal and wheat. Birds of the treatment groups were fed the basal diet supplemented with 150 mg/kg of the PFA (BIOSTRONG 510). The tested product is a combination of partly microencapsulated essential oils (mainly thyme and anis), saponins, pungent and bitter substances as main active ingredients. Diets were formulated to be iso-nutritive and to meet broiler requirements till day 21. In all trials feed and water were available *ad libitum*. All diets contained an indigestible marker (chromium oxide or titanium dioxide) for calculation of ileal nutrient digestibility. Table 1 shows a summary of diet composition and dietary nutrient content.

Table 1: Average dietary energy, crude protein, Ca and available P content in trial diets. Data presented as means including standard deviation (means ± SD)

	Dietary nutrient content
Energy (MJ ME/kg)	12.8 ± 0.29
Crude protein (g/kg)	215 ± 9.2
Ca (g/kg)	9.43 ± 0.87
av.P (g/kg)	4.19 ± 0.72

For ileal digestibility measurements of crude protein (CP), crude fat (XL), Ca and P on day 21 digesta samples were taken from the ileum. In all trials calculations for the ileal digestibility of nutrients were based on the indicator content in feed and ileum and the nutrient content in the ileum.

$$\text{Ileal digestibility (\%)} = 100 - \left[\frac{\% \text{ indicator in feed}}{\% \text{ indicator in ileum}} \times \frac{\% \text{ nutrient in ileum}}{\% \text{ indicator in feed}} \times 100 \right]$$

For each study, the absolute effects per treatment, and the effects relative to the unsupplemented control diet, were calculated. Variance analysis (Anova) was applied to determine differences between performance parameters and digestibility values of the control group and the Biostrong 510 treatment. To account for differences in the level of nutrient digestibilities between different trials, the number of the trial was included in the statistical model as a cofactor. The significance level was set at $p \leq 0.05$.

Results and discussion

The effect of the PFA on digestibility of CP and XL as well as of Ca and P are shown in figure 1. Results show the addition of the PFA significantly improved digestibility of CP ($p < 0.001$) and fat ($p = 0.003$) by 7.3 % and 2.9 %, respectively. In birds fed the PFA digestibility of calcium was significantly ($p < 0.001$) enhanced by 20.7 %, as well as of phosphorus was significantly ($p < 0.001$) enhanced by 20.6 %. Results of the meta-analysis show that final body weight and feed conversion ratio of birds fed Biostrong 510 were improved ($p < 0.001$) by +2.8% and -3.6% (data not shown).

The results of this meta-analysis clearly show the positive effects of the tested PFA on nutrient digestibility in broiler. Present results are in line with data presented by (Amad et al. 2010). They showed that the addition of a PFA containing essential oils and saponins significantly ($p < 0.05$) enhanced fat and protein digestibility as well as Ca and P digestibility in broilers on day 21, 35 and 42. Further positive effects of essential oils have been shown in different publications (Lee et al. 2003; Li et al. 2010; Platel and Srinivasan 2000). In these studies authors showed, that essential oils and spices stimulate the production and activity of digestive enzymes from the pancreas, gut mucosa and also increase the bile flow. This leads to an improved nutrient breakdown in the small intestine. Additionally, Li et al. (2010) reported that the addition of a PFA significantly ($p < 0.005$) enlarged the surface of the jejunum as well as of the ileum in 42 day old broilers. Both effects, the effects of PFA on endogenous enzymes and on gut morphology might explain the effects of Biostrong 510 on nutrient digestibility in broilers.

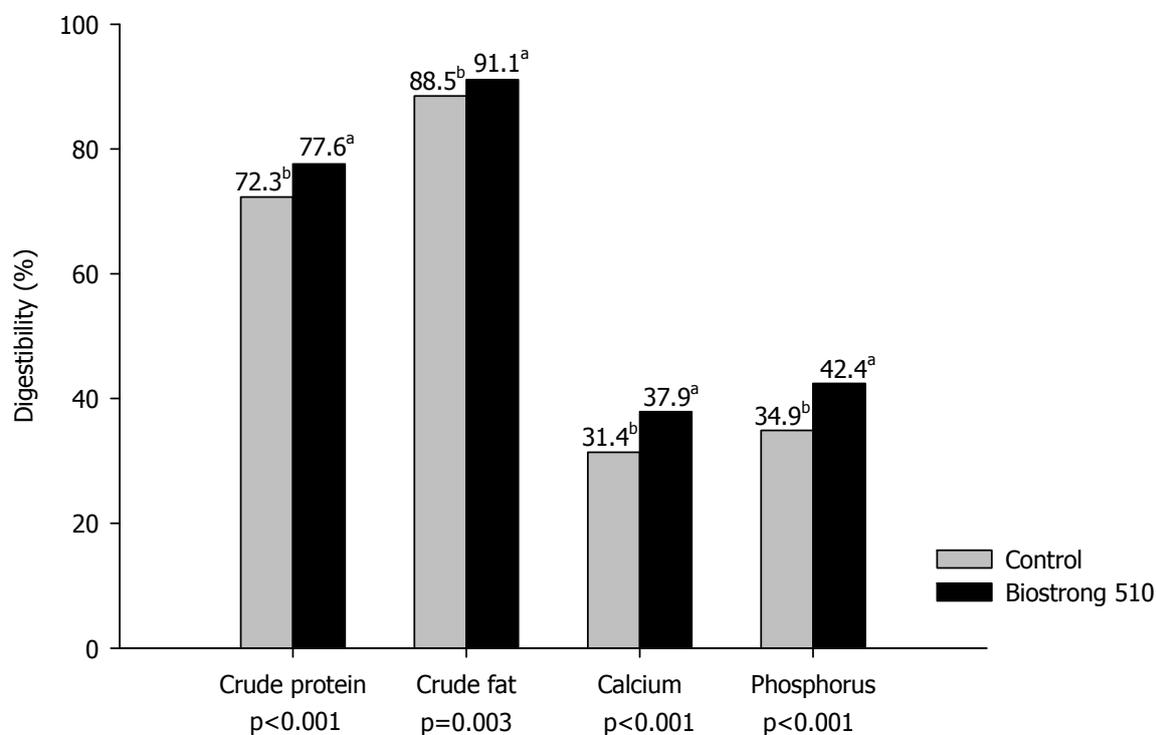


Figure 1: Effects of Biostrong® 510 on protein (CP), fat (XL), calcium (Ca) and phosphorus (P) digestibility.

Conclusion

Results of the conducted meta-analysis show, that broilers fed Biostrong 510 had significantly improved nutrient digestibility, even when data combined and analyzed from different trial stations. These effects can result in significantly improved feed conversion and thus in higher economical efficiency of broiler meat production.

References

- Amad, A. A., Männer, K., Wendler, K. R., and Zentek, J. (2010) Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chicken. Proceeding. FUB Poultry
- Demir, E., Sarica, S., Ozcan, M. A., and Suicmez, M. (2003) The use of natural feed additives as alternatives for an antibiotic growth promoter in broiler diets. British Poultry Science. 44:Supplement, S44-Supplement, S45
- Lee, K. W., Everts, H., Kappert, H. J., Frehner, M., Losa, R., and Beynen, A. C. (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
- Li, 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. XIII European Poultry Conference. 410
- Platel, K. and Srinivasan, K. (2000) Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. Nahrung-Food. 44:42-46

Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., and Kroismayr, A. (2008) Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*. 86:E140-E148

Corresponding author

Leopold Jungbauer
R&D Species Manager Poultry
Delacon Phytogetic Feed Additives
Weissenwolffstr. 14
A-4221 Steyregg
E-Mail: leopold.jungbauer@delacon.com

Effect of anethole on immune parameters and performance of broilers challenged with *Eimeria acervulina*

S.H. Lee¹, H.S. Lillehoj¹, S.I. Jang¹, K.W. Lee¹, D.K. Kim¹, M.S. Park¹, S. Torreyson¹, W.H. Song¹, D. Bravo² and C. Oguey²

¹ Animal and Natural Resources Institute, ARS-USDA, MD, USA

² Pancosma S.A. Le Grand –Saconnex, Geneva, Switzerland

Introduction

Coccidiosis is an economically important disease of poultry industry inducing annual economic losses greater than \$3 billion. As the regulation of drug usage in farm animals is increasing, new ways to control animal diseases are needed. The supplementation at low levels with compounds naturally occurring in plants and spices has successfully been demonstrated to enhance immunity in animals.

Among them, anethole has potent antimicrobial activity against bacteria, yeast, and fungi – bacteriostatic and bactericidal action against salmonella enterica. These broad spectrums of biological properties of Anethol suggest that it may protect against infectious diseases in poultry. However, these properties were demonstrated at high dosages.

The hypothesis was that anethole could prevent avian coccidiosis by affecting parasites viability and enhancing gut immune-health in young chickens. Therefore the objective of this trial was to evaluate the ability of anethole to reduce infection against avian coccidiosis *in vivo*.

Experimental procedure

Day-old broiler chickens were randomly allocated to one of the four following treatments for 19 days (N = 15):

- Not Infected Not Treated: *ad libitum* standard diet and no challenge
- Infected Not Treated: *ad libitum* standard diet and oral infection with 5000 oocysts/bird of *Eimeria acervulina* at 10 days of age
- Not Infected Fed Anethole: *ad libitum* standard diet supplemented with 15 g/t anethole and no challenge
- Infected Fed Anethole: *ad libitum* standard diet supplemented with 15 g/t anethole and oral infection with 5000 oocysts/bird of *Eimeria acervulina* at 10 days of age

The birds were housed in pens in an *Eimeria*-free facility for the first 10 days and then transferred into cages (2 broilers/cage) location in a separate room where they were infected and housed until the end of the trial. Body weights were measured after challenge.

Body weight difference was measured between day 0 and day 9 post infection. Fecall Oocyst numbers were determined from day 5 to 9 post infection as described (Lee et al., 2010a, b, c) using a McMaster chamber according to the formula: total oocysts/bird = (oocyst count × dilution factor × [fecal sample volume/counting chamber volume])/2. In each group, 4 birds were euthanized 9 days post infection. Blood was obtained from heart and serum samples were tested by ELISA to determine serum antibody levels against an apicomplexa antigen, EtMIC2 as described by Lee et al. (Lee et al., 2007a, b, 2010a). Single cell suspensions of peripheral blood lymphocytes (PBL) were prepared and incubated as described (Lee et al., 2007c, d) to evaluate peripheral blood lymphocytes subpopula-

tions. Local cytokine gene expression in intestinal tissue was determined using real time RT-PCR as previously described. Finally, proliferation response of splenocytes to concavalin A or profilin was assessed at 0 and 9 days post infection using ELISA techniques. (Lee et al., 2010c, d).

Data were analyzed by one-way analysis of variance, followed by the t-test or the Duncan's multiple range test. Differences were considered statistically significant at $P < 0.05$.

Results

Results showed that infected birds supplemented with anethole exhibited a 12% increase in body weight gain and 42% decrease in oocysts excretion compared to infected not treated animals.

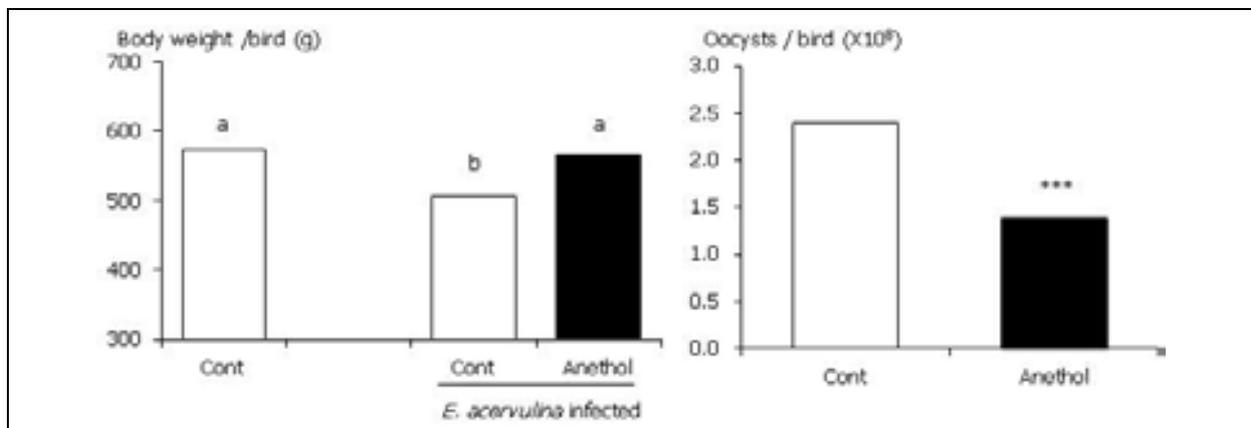


Figure 1: Effect of the treatments on body weight and oocyst excretion after challenge

In the absence of infection, anethole supplementation increased ($P < 0.05$) mRNA levels of IL-13 and IL10 and decreased mRNA levels of IL-2, IL-4, IL-8, IL-12, IL-17F, IFN- γ and TNFSF15. After the *E. acervulina* challenge, birds fed anethole exhibited greater ($P < 0.05$) mRNA levels of IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17F, TNFSF15 and IFN- γ compared to unsupplemented animals.

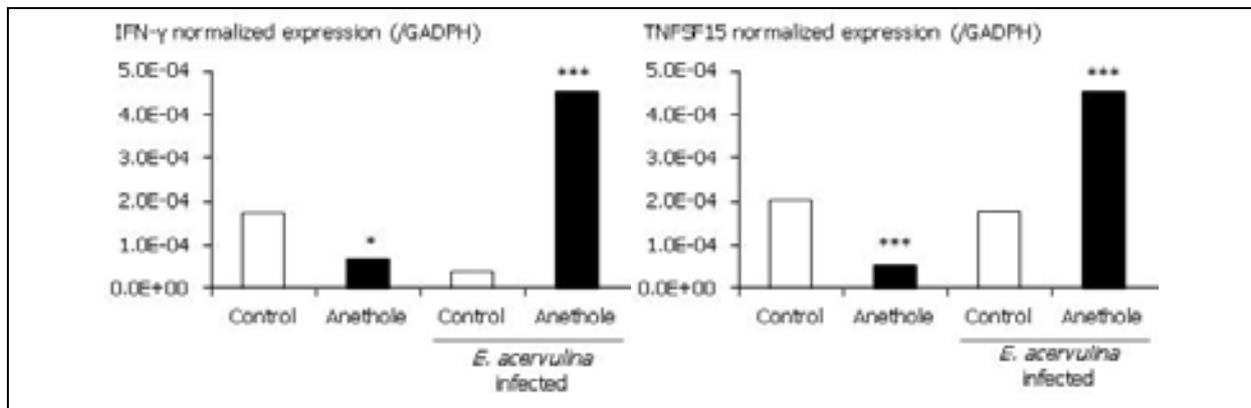


Figure 2: Effect of the treatments on mRNA levels of IFN- γ and TNFSF15 (*, $P < 0.05$; ***, $P < 0.001$)

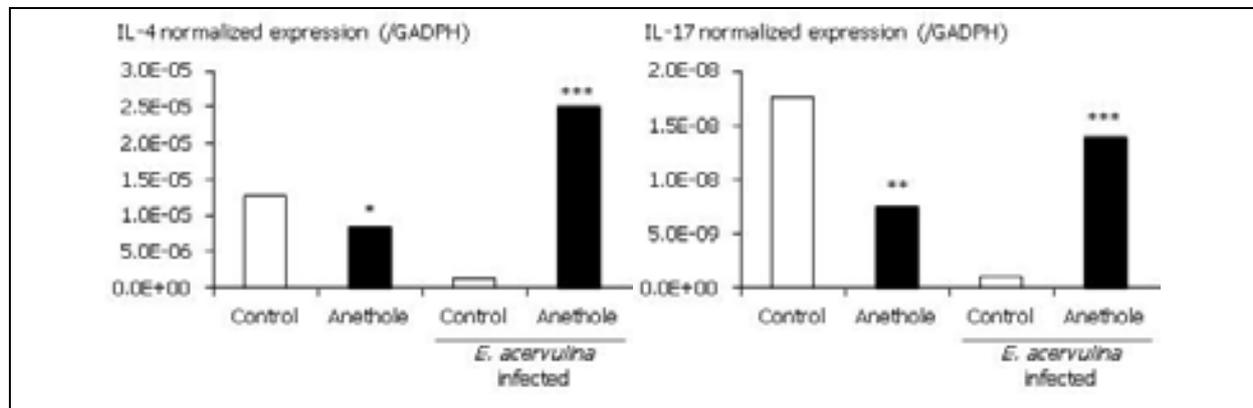


Figure 3: Effect of the treatments on mRNA levels of IL-4 and IL-17 (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$)

In the absence of infection, anethole supplementation increased ($P < 0.05$) serum antibody response to profilin. After challenge, birds fed anethole exhibited greater serum antibody responses against profilin and surface marker expression by splenocytes for CD8 ($P < 0.05$).

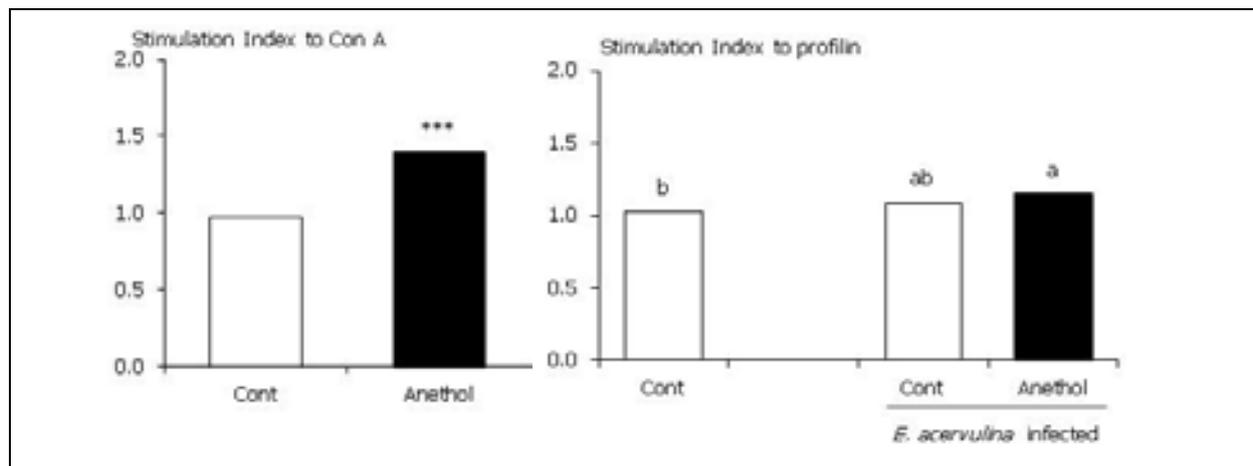


Figure 4: Effect of the treatments on splenocytes proliferation against Concanavalin A at day 0 post infection and against profilin at day 9 post infection

Finally, after infection, the percentage of spleen T lymphocytes expressing CD8, CD25 and TCR2 cell surface markers significantly increased in anethole-fed chickens compared to unsupplemented birds controls.

Discussion

This study showed that a low level of dietary anethole was up to cancel the negative effect of *Eimeria acervulina* challenge on broiler performance and reduced oocysts excretion. In addition, the supplementation of anethole affected immune parameters of broilers. However, this effect varied in sham

and in infected birds. Effectively, in the absence of challenge, anethole exerted mainly an anti-inflammatory effect through a decrease in the expression of IL-17, IFN- γ and TNFSF15, known to be pro-inflammatory cytokine, and IL-4. In birds infected by *Eimeria acervulina*, anethole increased the mRNA levels of these cytokines as well as IL-4. Interleukin-4 is considered as an anti-inflammatory cytokine and is known to induce differentiation of naïve helper T cells into lymphocytes Th2. In addition, IL-4 is a key regulator in humoral and adaptive immunity, which could explain the enhanced response to profiling of infected birds fed anethole. More studies are needed to investigate the mechanisms underlying these effects of anethole.

This study provides the first immunological evidence that anethole enhances immunity of chickens and increases local protective immunity against avian coccidiosis.

References

- Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Dalloul, R.A., Park, D.W., Hong, Y.H., Lin, J.J., 2007a. Influence of *Pediococcus*-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens. *Poultry Sci.* 86, 63-66
- Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Park, D.W., Hong, Y.H., Lin, J.J., 2007b. Effects of *Pediococcus* and *Saccharomyces*-based probiotic (MitoMax®) on coccidiosis broiler chickens. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 30, 261-268
- Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Chun, H.K., Tuo, W., Park, H.J., Cho, S.M., Lee, Y.M., Lillehoj, E.P., 2007c. *In vitro* treatment of chicken peripheral blood lymphocytes, macrophages, and tumor cells with extracts of Korean medicinal plants. *Nutr. Res.* 27, 362-366
- Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Park, D.W., Hong, Y.H., Cho, S.M., Chun, H.K., Park, H.J., 2007d. Immunomodulatory effects of dietary safflower leaf in chickens. *Kor. J. Commun. Living Sci.* 18, 715-724
- Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Jang, S.I., Lee, K.W., Yancey, R.J., Dominowski, P., 2010a. Effects of novel adjuvant complex/*Eimeria* profilin vaccine on intestinal host immune responses against live *E. acervulina* challenge infection. *Vaccine* 28, 6498-6504
- Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Jang, S.I., Kim, D.K., Ionescu, C., Bravo, D., 2010b. Effect of dietary Curcuma, Capsicum, and Lentinus, on enhancing local immunity against *Eimeria acervulina* infection. *J. Poultry Sci.* 47, 89-95
- Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Jang, S.I., Lee, K.W., Yancey, R.J., Dominowski, P., 2010c. Embryo vaccination of chickens using a novel adjuvant formulation stimulates protective immunity against *Eimeria maxima* infection. *Vaccine* 28 (49): 7774-7778
- Lee, S.H., Lillehoj HS, Jang SI, et al. (2010) Catherine Ionescu and David Bravo. Effect of Dietary Curcuma, Capsicum, and Lentinus, on Enhancing Local Immunity against *Eimeria acervulina* Infection. *J Poultry Sci* 47, 89-95

Corresponding author

Clémentine Oguey
PANCOSMA SA
Voie des Traz 6
1218 Le Grand Saconnex, Switzerland
e-mail: clementine.oguey@pancosma.ch

Effect of an encapsulated mixture of cinnamaldehyde, carvacrol and capsicum oleoresin and of NSP enzymes on performance of broilers fed different dietary energy levels

Clémentine Oguey and David Bravo

Pancosma S.A. Le Grand –Saconnex, Geneva, Switzerland

Introduction

There is an increasing interest towards feed additives based on plant extracts in broilers with evidences of effect on gut ecosystem, gut morphology (Cross et al., 2007; Mitsch et al., 2004), gut defence (Lillehoj et al., 2007) and energy partitioning (Bravo et al., 2010). Among such products, a ME value of 50 kcal/kg was established for 100 g of an encapsulated blend of carvacrol, cinnamaldehyde and capsicum oleoresin (XT, XTRACT[®] 6930, Pancosma; Bravo et al., 2011). In addition, the beneficial effect of non-starch polysaccharide enzymes (EZ, Rovabio Excel AP10) on ME was also validated (Min et al., 2009). However, no reference could establish if it was possible to combine EZ and XT associated with a reduced ME value without altering broiler performance. Therefore the objective of this trial was to evaluate the effect of XT and of a combination of NSP enzymes (EZ) alone or combined on performance of broilers fed standard or low energy levels.

Experimental procedure

A total of 420 day old male broilers (Arbor Acre) were randomly allocated for 42 days according to similar body weights to 60 pens of 7 chicks each. All the pens were located in the same building. Each pen was allocated to one the six following dietary treatments (10 pens per treatment):

- PC = Positive control, corn-soya broiler diet without antibiotics (Diet 1)
- EZ-50 = Positive control - 50 kcal/kg MEn + 500 ppm EZ
- XT-50 = Positive control - 50 kcal/kg MEn + 100 ppm XT
- XT+EZ-100 = Positive control - 100 kcal/kg MEn + 500 ppm EZ + 100 ppm XT
- XT = Positive control + 100 ppm XT
- EZ = Positive control + 500 ppm EZ

Broilers were fed *ad libitum* a diet based on corn and soybean meal given in three successive phases: starter, until 14 days of age, grower, from 15 to 28 days of age and finisher up to 42 days of age. The nutritional analysis of the experimental diets is detailed in the following table.

Table 1: Experimental starter diets

Treatment	PC	EZ-50	XT-50	XT+EZ-100	EZ	XT
ME,kcal/kg	2949	2900	2900	2850	2949	2950
fat,%	5.86	5.29	5.29	4.73	5.88	5.88
CP,%	21.00	21.00	21.00	21.00	21.00	21.00
Ca %	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90
Available P %	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45

Table 2: Experimental grower diets

Treatment	PC	EZ-50	XT-50	XT+EZ-100	EZ	XT
ME,kcal/kg	3050	3000	3000	2950	3050	3050
Fat,%	7.25	6.69	6.69	6.13	7.25	7.25
CP,%	19.01	19.01	19.01	19.01	19.01	19.01
Ca %	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
Available P %	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42

Table 3: Experimental finisher diets

Treatment	PC	EZ-50	XT-50	XT+EZ-100	EZ	XT
ME,kcal/kg	3100	3050	3050	3000	3100	3100
Fat,%	8.97	8.41	8.41	7.85	8.97	8.97
CP,%	17.01	17.01	17.01	17.01	17.01	17.01
Ca %	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Available P %	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32

Body weight, feed intake and feed conversion ratio were recorded for each pen per feeding phase and for the whole growing duration. Data were analyzed using the GLM procedure of SAS 9.2.

Results

The effects of the different treatments on performance until 14 days of age are detailed in the following table.

Table 4: Effect of the treatments on broiler performance from day 0 to 14

	PC	EZ	EZ-50	EZ+XT-100	XT	XT-50	SE	<i>P</i> -value
BWG d0-14 (g)	194.8	190.7	211.1	204.1	207.7	196.9	6.6	0.224
FI d0-14 (g)	267.6	257.1	284.7	279.2	277.9	267.0	9.6	0.362
FCR d0-14 (g/g)	1.373	1.348	1.348	1.366	1.338	1.356	0.01	0.168

During the starter phase, there was no effect of the treatments on broiler feed intake, body weight gain and feed conversion ratio ($P > 0.15$).

The effects of the different treatments on performance between 15 and 28 days of age are detailed in the following table.

Table 5: Effect of the treatments on broiler performance from day 15 to 28 (a, b, c, $P < 0.05$)

	PC	EZ	EZ-50	EZ+XT-100	XT	XT-50	SE	<i>P</i> -value
BWG d14-28 (g)	546.1	580.3	549.5	580.5	623.2	576.7	20.6	0.125
FI d14-28 (g)	870.6	926.7	890.1	951.4	979.3	908.7	33.1	0.22
FCR d14-28 (g/g)	1.593 ^{ab}	1.596 ^{ab}	1.623 ^{bc}	1.642 ^c	1.572 ^a	1.575 ^a	0.015	0.011

During the grower phase, there was no significant effect of the treatments on body weight gain and feed intake. Birds fed EZ, EZ-50, XT, XT-50 and PC had similar feed conversion ratio. However, animals in XT+EZ-100 exhibited a feed conversion ratio increased by 3.1% ($P = 0.03$) compared to PC group.

As a result, feed conversion ratios between day 0 and 18 in EZ, EZ-50, XT and XT-50 groups were not different from PC ($P > 0.10$). However, birds fed XT+EZ-100 had a higher feed conversion ratio than those fed PC (+2.2%, $P = 0.02$).

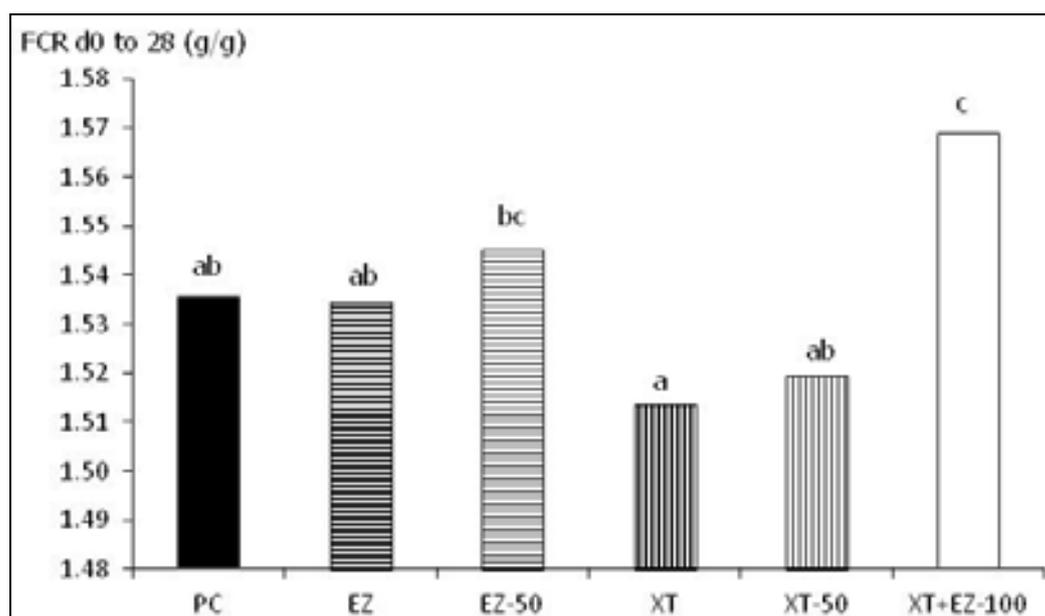


Figure 1: Effect of the treatments on broiler feed conversion ratio from day 0 to 28 (a, b, c, $P < 0.05$)

The effects of the different treatments on performance for the whole growing period are detailed in the following table.

Table 6: Effect of the treatments on broiler performance from day 0 to 42 (a, b, c, $P < 0.05$)

	PC	EZ	EZ-50	EZ+XT-100	XT	XT-50	SE	P -value
BW d42 (g)	1733.2 ^a	1804.7 ^{ab}	1783.0 ^{ab}	1864.4 ^{bc}	1924.0 ^c	1777.0 ^{ab}	40.2	0.021
BWG d0-42 (g)	1693.2 ^a	1764.7 ^{ab}	1743.0 ^{ab}	1824.4 ^{bc}	1884.0 ^c	1737.3 ^{ab}	40.2	0.021
FI d0-42 (g)	3238.8 ^a	3320.7 ^{ab}	3313.2 ^{ab}	3498.1 ^b	3507.3 ^b	3279.2 ^a	74.1	0.049
FCR d0-42 (g/g)	1.914 ^{ad}	1.882 ^{bc}	1.901 ^{ad}	1.919 ^a	1.862 ^c	1.887 ^{bcd}	0.01	0.002

XT and XT+EZ-100 increased final body weight (respectively +11.0% and +7.6%, $P < 0.05$), body weight gain (respectively +11.3% and +7.7%, $P < 0.05$) and feed intake (respectively +8.3% and +8.0%, $P < 0.05$) compared to PC. In addition, birds in PC, EZ-50 and XT-50 groups exhibited similar body weights and body weight gains ($P > 0.38$). Feed conversion ratios of broilers fed EZ-50 and XT+EZ-100 were not different from those fed PC ($P > 0.35$). XT-50 tended to reduce feed conversion

ration compared to PC (-1.4%, $P = 0.06$), while XT and EZ significantly lowered this parameter versus PC (respectively -2.7% and -1.7%, $P < 0.03$).

Discussion

These results show that until the end of the grower feeding period, the supplementation of XT is sufficient to counteract the effect of ME reduction on feed efficiency. However, the lack of difference in feed efficiency between XT and XT-50 suggest that this effect may not be linked to an increased energy extraction but more probably to another parameter such as an improved energy partitioning. During this period, the altered feed efficiency observed in XT+EZ-100 birds shows that the supplementation of XT and EZ combined was not sufficient to cancel the effect of ME reduction on broiler performance.

On the whole growing period, the supplementation of EZ and XT alone or combined is sufficient to counteract the effect on ME reduction on feed efficiency. This suggests that EZ and XT have different modes of action, and that their combined effects may lead in a first step to an improvement of the gut function and to better performance results in a second step.

Therefore this trial shows that XT or EZ added on top to a diet improve performance of broilers. XT-50 kcal/kg ME and EZ-50 kcal/kg ME, alone or combined can be applied to the diet of broilers without affecting the global performance of the animals.

References

- Bravo, D., T. G. Petrolli, L. Albino, and H. S. Rostagno. Effect of a mixture of turmeric and capsicum oleoresins and of a garlic botanical on broiler chickens performance and intestinal histology. 2010 ADSA[®]-PSA-AMPA-CSAS-ASAS Joint Annual Meeting. 2010
- Bravo, D., P. Utterback, and C. M. Parsons. 2011. Evaluation of a mixture of carvacrol, cinnamaldehyde, and capsicum oleoresin for improving growth performance and metabolizable energy in broiler chicks fed corn and soybean meal. J APPL POULT RES 20:115-120
- Cross, D. E., R. M. McDevitt, K. Hillman, and T. Acamovic. 2007. 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. British Poultry Science 48:496-506
- Lillehoj, H., C. Kim, C. Keeler, and S. Zhang. Immunogenic approaches to study host immunity to enteric pathogens. Poultry Science 86, 1491-1500. 2007
- Min, Y. N., F. Yan, F. Z. Liu, C. Coto, and P. W. Waldroup. 2009. Effect of various dietary enzymes on energy digestibility of diets high in distillers dried grains with solubles for broilers. J APPL POULT RES 18:734-740
- Mitsch, P., K. Zitterl-Eglseer, B. Kohler, C. Gabler, R. Losa, and I. Zimpernik. 2004. The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of Clostridium perfringens in the intestines of broiler chickens. Poult. Sci 83:669-675

Corresponding author

Clémentine Oguey
PANCOSMA SA
Voie des Traz 6
1218 Le Grand Saconnex, Switzerland
E-mail: clementine.oguey@pancosma.ch



BIOMIN Research & Development

Turning science into sustainable solutions

Our strong in-house research and development, and global cooperation with leading institutions and organisations form the basis by which innovative solutions are developed for our customers.



research.biomin.net

Naturally ahead

≡ Biomin ≡

Effects of Essential Oil Supplementation on Growth Performance of Turkey Hens Fed to 98 Days of Age

Tobias Steiner¹, Amanda Jordan² and Michael Hulet³

¹ BIOMIN Holding GmbH, Herzogenburg, Austria

² BIOMIN USA Inc, San Antonio, TX, U.S.A.

³ Penn State University, PA, U.S.A.

Abstract

Consumer fear of a possible increase in antibiotic-resistant bacteria has encouraged a search for alternatives for use in the diets of commercial poultry and other livestock. An increase in research and development of "natural fed" (use of no animal protein products), organic and antibiotic-free (ABF) diets is a result of increased consumer demand for these products. Essential oils (EO) were reported to improve nutrient digestibility, growth performance and feed efficiency in poultry, hence can contribute to productivity in ABF feeding programs for turkeys.

The objectives of this experiment was to evaluate the effect of supplementing a basal ABF diet with matrix-encapsulated essential oils on the growth efficiency and performance of turkey hens fed to 98 days of age.

Birds (Hybrid, Ontario, Canada) were brooded in 6 pens until 14 days of age and then split into 12 pens. Birds were supplied feed and water *ad libitum*. Diets were based on corn and soy bean meal and were pelleted at 80°C. The feeding program included a pre-starter (0 to 14 days), starter (14 to 42 days), grower (42 to 70 days) and finisher (70 to 84 days) diet.

Birds were assigned to two treatments with 45 birds per pen and 6 pens per treatment: (1) Control, where birds were fed the basal diet, and (2) EO, where birds were fed the basal diet supplemented with matrix-encapsulated EOs (Biomim[®] P.E.P. MGE 150). The EO supplement was included in the basal diet at a dosage of 150 g/t in the pre-start, starter and grower diet, and 100 g/t in the finisher diet.

EO supplementation increased ($P < 0.001$) final live weight by 5.9% (Control: 8604 g vs. EO: 9113 g); increased ($P < 0.001$) feed consumption by 7.2% (Control: 19059 g vs. EO: 20425 g). Feed conversion ratio was improved ($P < 0.001$) in the starter diet, but did not differ from the Control (Control: 2.337 vs. EO: 2.317; $P > 0.05$) at the conclusion of the experiment. Total mortality and culls amounted to 1.7 and 1.8% in the Control and EO treatments, respectively.

In conclusion, supplementation of ABF diets with matrix-encapsulated EO has potential to improve growth performance in turkey females fed to 14 weeks of age.

Introduction

Consumer concerns about a possible increase in antibiotic-resistant bacteria have driven the search for alternative additives for use in feeding programs for commercial poultry and other livestock. An increase in research and development of "natural fed" (use of no animal protein products), organic and antibiotic-free (ABF) diets is a result of increased consumer demand for these products. Essential oils (EO) were reported to improve nutrient digestibility, growth performance and feed efficiency in

poultry (Brenes and Roura, 2010) including turkeys (Bampidis et al., 2005; Papageorgiou et al., 2003), hence can contribute to productivity in ABF feeding programs.

The objectives of this experiment was to evaluate the effect of supplementing a basal ABF diet with matrix-encapsulated essential oils on the growth efficiency and performance of turkey hens fed to 98 days of age.

Materials and methods

Animals, housing and dietary treatments

At Penn State Turkey Unit (USA), 541 one-day old poults (Koch's Turkeys hybrid, Tamaqua, PA, United States) were brooded in 6 pens until 14 days of age and then split into 12 pens. Birds were assigned to 2 treatments (270 birds/treatment), each including 6 replications with 45 birds per replication. The treatments were: (1) Negative Control (no additives) and (2) EO (matrix-encapsulated essential oils). Diets were based on corn and soy bean meal and were pelleted at 80°C. The feeding program included a pre-starter (0 to 14 days), starter (14 to 42 days), grower (42 to 70 days) and finisher (70 to 84 days) diet. The EO supplement, based on matrix-encapsulated essential oils from thyme, oregano, anise and citrus (Biomin® P.E.P. MGE 150), was included in the diets of Treatment 2 at a dosage of 150 g/t in the pre-starter, starter and grower diet, and 100 g/t in the finisher diet. The analysed composition of the diets is shown in Table 1.

Table 1: Analysed composition (%) of the experimental diets

Diet	Crude protein	Crude fat	Crude fiber	Crude ash	Moisture
<i>Pre-Starter (day 0-14)</i>	25.8	3.7	3.6	7.0	10.2
<i>Starter (day 14-42)</i>					
Control	24.7	3.8	3.4	7.1	11.1
EO	24.8	3.5	3.4	7.2	11.7
<i>Grower (day 42-70)</i>					
Control	23.8	5.1	3.3	5.9	12.6
EO	23.8	4.5	3.3	6.0	12.9
<i>Finisher (day 70-98)</i>					
Control	19.8	4.1	3.3	5.5	12.2
EO	19.5	3.9	2.9	5.1	12.2

Measurements and statistical analysis

Parameters and recordings included body weight, feed intake, mortality and culls. Data were analyzed by ANOVA with 'treatment' as fixed factor, followed by a t-test to separate treatment means. Differences were considered significant at a P -value < 0.05.

Results and discussion

Supplementation of the diets with EO improved different performance parameters in female turkeys. Final body weight was increased by 5.9% ($P < 0.001$) in comparison to the control treatment (9.1 vs. 8.6 kg) (Figure 1), corresponding to an improvement in hen weight gain (8.7 vs. 8.2 kg/hen; $P < 0.001$; data not shown). Overall feed intake, measured from 14 to 98 days of age, was increased ($P < 0.001$) by 7.2% (20.5 vs. 19.1 kg/bird) (Figure 2). Feed conversion (feed/gain) ratio was 2.32 and 2.34 ($P > 0.05$) in the Control and EO treatment, respectively (Figure 3). Total losses including

mortality and culls amounted to 1.74 and 1.83% ($P > 0.05$) in the Control and EO treatment, respectively.

Turkeys are exposed to several challenges throughout the production period. Stress caused by sudden changes in diet composition or housing conditions can result in performance decline due to suboptimal digestion or limited utilization of nutrients. This may cause an imbalance of the intestinal microflora, thus resulting in a reduction in beneficial bacteria and their replacement by pathogens. Presumably phytochemical substances can provide a well-balanced gastrointestinal microflora by inhibiting pathogenic bacteria and promoting the beneficial microflora. It was reported that phenolic compounds such as carvacrol from oregano oil may penetrate into the bacterial cell or disintegrate the cell membrane (Greathead, 2003), resulting in an increased permeability and finally cell death.

The present study showed that supplementation with essential oils improved final body weight, which confirms results by Mikulski et al. (2008) who showed that supplementation of a basal diet with a blend of oregano essential oil and different spice extracts at 0.3 g/kg increased final body weight of turkeys by 3.2%. In contrast, no differences in body weight gain or feed intake were obtained in turkeys fed oregano oil at 100 or 200 mg/kg (Papageorgiou et al., 2003), indicating that the composition of EO supplements has a major impact on their *in vivo* efficacy.

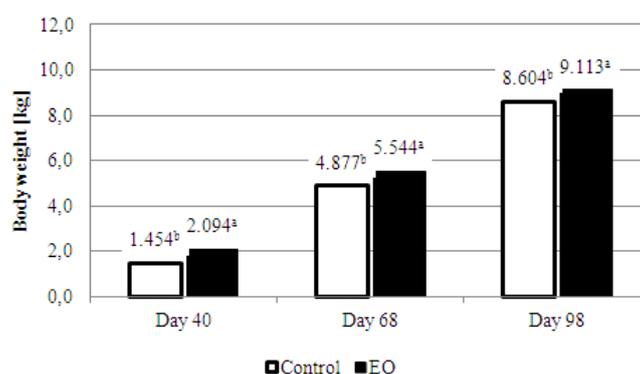


Figure 1: Effect of dietary supplementation with matrix-encapsulated essential oils on turkey body weight.

^{a,b}Means with different superscripts differ ($P < 0.001$).

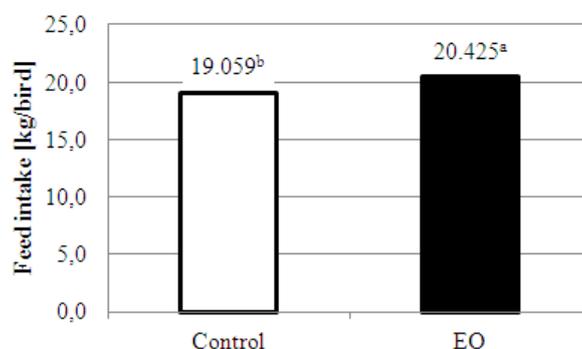


Figure 2: Effect of dietary supplementation with matrix-encapsulated essential oils on turkey feed intake from 14-98 days of age.

^{a,b}Means with different superscripts differ ($P < 0.001$).

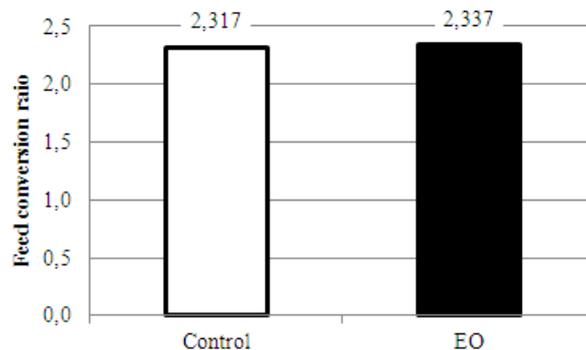


Figure 3: Effect of dietary supplementation with matrix-encapsulated essential oils on turkey feed conversion ratio from 14-98 days of age

Conclusion

The results of this study confirm a positive impact of dietary supplementation on growth performance in turkeys. Supplementation of ABF diets with matrix-encapsulated EO has potential to improve growth performance in turkey females fed to 14 weeks of age.

References

- Bampidis V.A., Christodoulou V., Florou-Paneri P., Christaki E., Chatzopoulou P.S., Tsiligianni T., Spais A.B., 2005. Effect of dietary dried oregano leaves on growth performance, carcass characteristics and serum cholesterol of female early maturing turkeys. *Brit. Poultry Sci.* 46: 595-601
- Brenes, A., Roura, E., 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Anim. Feed Sci. Technol.* 158, 1-14
- Greathead, H., 2003. Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proc. of the Nutr. Soc.* 62: 279-290
- Mikulski, D., Zduńczyk, Z., Jankowski, J., Juśkiewicz, J., 2008. Effects of organic acids or natural plant extracts added to diets for turkeys on growth performance, gastrointestinal tract metabolism and carcass characteristics. *J. Anim. Feed Sci.* 17, 233-246
- Papageorgiou, G., Botsoglou, N., Govaris, A., Giannenas, I., Iliadis, S., Botsoglou, E., 2003. Effect of dietary oregano oil and α -tocopheryl acetate supplementation on iron-induced lipid oxidation of turkey breast, thigh, liver and heart tissues. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 87, 324-335

Corresponding author

Dr. Tobias Steiner
BIOMIN Holding GmbH
Industriestrasse 21
A-3130 Herzogenburg
E-Mail: tobias.steiner@biomin.net

Evaluation of ammonia reduction potential of saponin containing plant materials by measurement of urease inhibition

T. Weber¹, M. Veit², K.R. Wendler², J. Weghuber¹ and O. Höglinger¹

¹ University of Applied Sciences Upper Austria, Wels, Austria

² Delacon Biotechnik, Steyregg, Austria

Introduction

The rate of the toxic gas ammonia, which is harmful to the environment and human and animal health, accounts for 55% of the total emitted anthropogenic nitrogen. Ammonia emissions are mainly caused by agricultural ammonia volatilisation due to bacterial activity. The main pathway for bacterial ammonia production is hydrolytic deamination, which causes degradation of urea by the enzyme urease into ammonia and carbon dioxide.

Dietary application of quillaja and yucca in livestock is reported to reduce ammonia formation from litter and slurry (Cheeke, 1999); thereby reducing ammonia emissions from pig and poultry farms (Veit et al., 2011, Jelinek et al., 2004). The suggested mode of action is the inhibition of the enzyme urease and/or the binding of ammonia by plant substances (Killeen et al. 1998, Nazeer et al., 2002, Yeo & Kim, 1997). However, information on the efficacy of different fractions of yucca and quillaja on ammonia formation from slurry is limited.

The aim of the present study was to develop an *in vitro* testing system for screening of plant materials and chemical substances for their potential to inhibit the activity of bacterial urease and to evaluate plant extracts for their urease inhibiting capacity.

Materials and methods

Commercial extracts *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* were purchased. Quillaja standard was obtained from Applichem (Table 1). Standard and extracts were applied in tests in concentrations of 0, 10, 50, 100, 200, 400, and 600 mg/L. Measurements were performed in triplicates.

Ammonia formation was measured in cultures of *Clostridium sporogenes* and mixed cultures obtained from swine faeces either by 1) peptone water assay, 2) minimal medium assay or 3) urease assay. An aliquot of bacterial suspensions was incubated for 24 h at 37 °C in peptone water or minimal medium, containing urea. Formed ammonia was measured by Merck ammonium test kit. Activity of urease, extracted from bacteria after incubation with the test substances, was measured.

Table 1: Yucca and Quillaja Extracts used in tests

Extract	Origin & Content	Peptone Water	Minimal Media	Urease Assay
Quillaja saponin extract	Quillaja bark, 10-12% saponin	X	X	X
Quillaja poly-phenol extract	Quillaja bark, >7% polyphenols			X
Yucca saponin extract	Yucca powder, >10% saponin	X	X	X
Yucca poly-phenol extract	Yucca powder, >3% Polyphenols			X

Viability of bacteria was determined in order to evaluate possible growth-inhibiting effects of the tested plant materials.

Results and discussion

Results obtained for the different extracts with the three assays are presented in Table 2. Values given are ammonia concentrations in % of the non-treated controls.

Obtained data from the peptone water assay indicate high variation between measures. This might be explained by effects of plant extracts on bacterial growth, i.e. growth stimulation may lead to higher ammonia uptake by bacteria leading to reduced ammonia concentrations in test solution. Consequently, differences in ammonia production may not only be explained by effects on urease activity. The test was therefore not considered for further analysis.

Similar effects were observed with the minimal media assay. In analogy to the pepton-water assay differences in ammonia production might result from effects on bacterial growth rather than from direct effects on urease activity alone.

The urease assay showed low standard deviation and hence, good reproducibility of individual measure. Thus test enables evaluation of effects of plant extracts on urease activity, while no conclusion on the mode of action of inhibition can be made.

Table 2: Relative ammonia concentration (%) as obtained by peptone water, minimal media, and urease assay

Extract	Dosage mg/L					
	10	50	100	200	400	600
Peptone Water Assay						
<i>Clostridium</i>						
QS	76,4±16,2	72,5±12,1	66,7±18,7	80,0±6,4	67,6±14,1	79,9±36,9
YS	87,6±2,9	92,3±3,9	87,2±9,2	91,7±3,1	84,9±7,4	72,2±11,7
<i>Mixed culture</i>						
QS	70,0±0,8	81,0±15,0	75,1±12,3	67,8±4,2	68,1±4,6	74,5±11,2
YS	241,5±18,8	208,7±23,8	171,4±63,7	104,5±5,9	103,1±5,3	148,8±16,9
Minimal Media Assay						
<i>Clostridium</i>						
QS	90,4±6,2	78,0±4,2	50,7±16,4	29,8±9,5	24,6±3,1	10,3±8,9
YS	64,1±13,4	68,5±16,4	95,2±25,1	114,0±30,8	144,8±30,8	107,4±27,0
<i>Mixed culture</i>						
QS	121,0±23,6	142,7±31,1	115,1±11,0	78,3±17,4	87,0±8,8	96,4±14,2
YS	114,8±5,9	116,8±9,7	111,7±23,2	109,1±7,2	112,5±19,7	102,9±12,2
Urease Assay						
QS	89,7±3,8	102,9±7,2	95,6±5,3	88,6±6,4	87,9±7,0	78,1±4,9
YS	99,5±1,0	99,1±3,3	96,8±4,6	92,1±4,6	88,6±4,8	80,8±0,5
QP	74,1±7,3	76,9±6,5	92,2±14,6	78,6±1,4	87,7±8,5	97,1±12,1
YP	87,1±16,2	104,6±5,4	100,4±5,6	98,6±17,0	114,6±15,5	98,8±8,6

Results obtained by the three assays show highest potential of Quillaja saponin to reduce ammonia production. Yucca saponins led to similar results as Quillaja saponins in the urease assay, while results obtained with minimal media and peptone water assay show increased ammonia concentrations. This might be explained by possible stimulating effects of yucca saponins on bacterial growth.

Polyphenol fractions of yucca and quillaja show no clear effect on urease activity. Nevertheless, urease activity was slightly lower upon application of Quillaja compared to Yucca polyphenols.

Viability of bacteria was not reduced by the plant powders and extracts (data not shown).

Conclusions

In vitro methods seem promising tools for investigations on the biological activity of plant extracts. The developed urease assay is a suitable method for the evaluation of saponin-containing plant extracts to reduce ammonia formation. Results of the in vitro tests reveal differences in biological activity of commercial Yucca and Quillaja extracts. Testing of plant extracts is therefore recommended for development of effective feed additive for reduction of ammonia emissions.

References

- Cheeke, P. R. (1999): Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.* 77: 1-10
- Jelinek, A., Dedina, M., Pliva, P., Soucek, J. (2004): Research of biological agents effects on reduction of ammonia concentration in stables of intensive farm animals breeding. *Res. Agr. Eng.* 50: 43-53
- 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., K.R. Wendler, E. Zentner and I. Mösenbacher-Molterer. (2011)^b: Reduction of ammonia concentration in growing-finishing pigs with Fresta[®] F Plus. *KTBL Schrift 491. Emissionen der Tierhaltung – Treibhausgase, Umweltbewertung, Stand der Technik.* 391-395
- 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.* 7, 381-385

Corresponding author

Dr. Otmar Höglinger
University of Applied Sciences
Stelzhamerstr. 23
A-4600 Wels
E-Mail: otmar.hoeglinger@fh-wels.at

Zum Einfluss des Einsatzes von Cyanobakterien *Spirulina platensis* auf die Zahl der somatischen Zellen in der Kuhmilch

**Arūnas Juožaitis, Vida Juožitienė, Rolandas Stankevičius,
Elena Čereškienė, Lina Anskienė und Aleksandras Muzikevičius**

Litauische Universität für Gesundheitswissenschaften, Veterinärmedizinische Akademie, Kaunas, Litauen

Einleitung

Rentabilität eines Milchbetriebes hängt in entscheidendem Maße von der Leistung seines Kuhherdes ab. In letzteren Jahren konnten die meisten litauischen Milchbetriebe erfolgreich eine Steigerung der Milchleistung erzielen. Als positive Einflussfaktoren sind bessere Ausnutzung des genetischen Potentials, bessere Fütterungs- und Haltungsbedingungen sowie größere Erfahrung der Milchwirte zu nennen. Leistung der Milchkühe und somit auch die Rentabilität eines Milchbetriebes wird hauptsächlich von Fütterungsbedingungen entschieden. Infolge steigender Nachfrage nach hochqualitativen und sicheren tierischen Produkten sowie zur Vermeidung negativer Einflüsse auf Tiergesundheit intensiviert sich auch der Einsatz natürlicher und sicherer Futterzusatzstoffe, die tierische Leistungen positiv beeinflussen, ohne den Gesundheitsstatus der Nutztiere zu beeinträchtigen (Jeroch et al., 2004; Kupraš et al., 2003).

Zu den neueren und eine stärkere Nachfrage genießenden Futterzusatzstoffen zählen Phytobiotika als biologisch wirksame Präparate, die gegen pathogene Keime wirken und dadurch Zusammensetzung von Darmflora verbessern sowie positive Effekte auf Tiergesundheit und Qualität tierischer Produkte zeigen. Zu den Phytobiotika wird auch *Spirulina* – eine Gattung der Cyanobakterien, auch als Blaualgen oder Mikroalgen bezeichnet. *Spirulina* kommt in alkalischen Gewässern mit ausreichendem Wärme- und Lichtangebot vor, sie besiedelt vor allem Gewässer in Süd- und Mittelamerika, Südostasien und Afrika. Große Vorkommen von *Spirulina* gibt es im mexikanischen Texcoco-See sowie im Tschadsee und anderen mittelafrikanischen Seen (Vonshak, 1997).

Spirulina platensis enthält zahlreiche biologisch wirksame und aktive Substanzen wie Vitamine, Mineralstoffe und Polysaccharide, die Komplexe mit Metallen bilden können und dadurch besser verfügbar sind. Von bioaktiven Substanzen sind Isoprenoide besonders wichtig, die sich positiv auf Enzymaktivität, Nukleinsäurebildung und Photosynthese auswirken. Darüber hinaus sind in *Spirulina platensis* Phytohormone und Enzyme enthalten, die für ihre antioxidative Wirkung verantwortlich sind. Pigment Phycocyanin stimuliert das Nerven- und Immunsystem (Benemann, 1992; Mazo et al., 2004). Sie enthält auch essentielle Aminosäuren, Eiweiß, Betacarotin und andere Carotinoide, Vitamine des B-Komplexes, Vitamin E, Biotin, Folsäure, Pantothenensäure, leicht verfügbare Spurenelemente sowie in hohen Konzentrationen Eisen und mehrfach ungesättigte Fettsäuren. *Spirulina*-Farbstoffe Phycocyanin, Chlorophyll, Carotinoide weisen antioxidative Wirkungen auf. Auch sind *Spirulina*-Produkte frei von Toxinen und sicher (Spolaore et al., 2005; Šimkus et al., 2005).

Spirulina-Biomasse wird in Aquakulturen in abgeschlossenen Photosynthese-Becken mit einem speziellen Nährmedium kultiviert. *Spirulina* hat eine 100fache Größe von Süßwasseralge *Chlorella vulgaris*, deshalb ist ihr Anbau weniger problematisch, da Verwendung einer Zentrifuge keine Notwendigkeit darstellt und mehr Biomasse gewonnen werden kann (Praškevičius et al., 2006; Spolaore et al., 2005).

Forschungsmeinungen zufolge (Benemann, 1992; Vonshak, 1997; Mazo et al., 2004) empfiehlt sich *Spirulina platensis* als Nahrungsergänzungsmittel in Human- bzw. Tierernährung zur Ergänzung von limitierenden Substanzen sowie zur Stoffwechselverbesserung (Sederevičius et al., 2006). Dank günstiger Zusammensetzung, biologisch wertvollem Eiweiß, einem günstigen Muster von essentiellen Aminosäuren, Gehalte an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, Vitaminen und Mineralstoffen, biologisch wirksamen Substanzen eignet sich *Spirulina platensis* auch als Futterzusatz für laktierende Milchkühe (Šimkus et al., 2006).

Material und Methoden

Zur Prüfung des Einflusses von Cyanobakterien *Spirulina platensis* auf somatische Zellzahl in der Kuhmilch wurde ein 90-tägiger Versuch mit 100 Hochleistungskühen in einem mittellitauischen Milchbetrieb in der Weideperiode (von Juni bis September 2011) durchgeführt. Dafür wurden je zwei weitgehend identische Kuhgruppen (n=25) – Litauische Schwarzbunte und Litauisches Rotvieh – gebildet. In der Versuchsperiode wurden für beide Gruppen gleiche Haltungsbedingungen gesichert.

Die Ration der Weideperiode für beide Gruppen bestand aus dem Weidefutter und individuellen Kraftfuttermitteln je nach Milchleistung (300 g je 1 kg Milch). Die Versuchskühe bekamen zusätzliche Gaben von 33,3 g *Spirulina platensis* in Pulverform (61 Prozent Eiweiß, 11 Prozent Phycocyanine). Der Futterzusatz wurde dem Kraftfutter beigemischt. Rationen beider Gruppen wiesen ein ausgewogenes Verhältnis von Energie (NEL) und nutzbarem Rohprotein (nRP) auf und entsprachen den Fütterungsempfehlungen (Jatkauskas et al. 2002).

In der Versuchsperiode wurden Gesundheitszustand bzw. Ernährungszustand der Milchkühe sowie Fressverhalten und Mastitis-Auftreten beobachtet.

Die Milchanalysen wurden im Labor von VĮ „Pieno tyrimai“ (Milchuntersuchungen) durchgeführt, somatische Zellzahl wurde elektronisch bestimmt (SomaScope (CA-3A4.2004; Delta Instruments; Niederlande).

Die Milchproben zum Nachweis von Mastitis-Erregern wurden mit einer in VĮ „Pieno tyrimai“ zubereiteten Konservierung behandelt. Dabei kam ein Konservierungspräparat auf Borsäurebasis zum Einsatz (Dosierung 0,4 ml je 30 ml Milch). Auswertung der gewachsenen Kolonien erfolgte visuell anhand Aussehen, Größe, Farbe und Hämolyse-Zonen.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der SPSS-Software (Liz. Nr. 9900457; Version 15, SPSS Inc., Chicago, IL). Zur Prüfung der Unabhängigkeit von Merkmalen kam der Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test) mit Berücksichtigung von der Anzahl der Freiheitsgrade (df) und vom vorgegebenen Signifikanzniveau zum Einsatz.

Ergebnisse und Diskussion

Bei der somatischen Zellzahl der Milch handelt es sich um einen der wichtigsten Parameter, die in letzter Zeit in den meisten Programmen der Milchviehselektion Anwendung finden. Die Relevanz der somatischen Zellzahl für Kuhgesundheit, Milchqualität und Milchverarbeitung ist experimentell bewiesen, wie auch ihr phenotypische und genetische Zusammenhang mit Mastitis. (Juoaitienė et al., 2004).

Die in der Tabelle 1 zusammengefassten Daten bringen zum Ausdruck, dass in der Milch von Litauischen Roten Kühen eine höhere Zahl der somatischen Zellen im Vergleich mit der Milch der Litauischen Schwarzbunten Kühe nachgewiesen wurde. Beim Vergleich zwischen Rassen konnte festgestellt werden, dass somatische Zellzahl in beiden Rotviehgruppen höher war: 1,22 Mal höher in der Spirulina-Gruppe und 1,08 Mal höher in der Kontrolle.

Bei der Prüfung des Einflusses von *Spirulina platensis* auf die nach somatischer Zellzahl zu beurteilende Milchqualität bei Litauischen Schwarzbunten wurde festgestellt, dass in der Gruppe mit Spirulina-Zusatz somatische Zellzahl um $153,1 \times 10^3/\text{ml}$ geringer als in der Kontrolle war.

Bei Litauischen Roten Kühen wurde der Unterschied von $140,43 \times 10^3/\text{ml}$ zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe ermittelt.

Tabelle 1: Somatische Zellzahl in den Kuhgruppen

Rasse	Somatische Zellzahl $10^3/\text{ml}$	
	Gruppe mit Spirulina-Zusatz	Gruppe ohne Spirulina-Zusatz
Litauische Schwarzbunte	204,91 ± 18,48	358,01 ± 72,13
Litauische Rote	249,26 ± 23,49	389,69 ± 81,08

Für Milchviehalter ist der kostendeckende Milchpreis entscheidend, der in hohem Maße von der Milchqualität abhängig ist. Dabei stellt Mastitis als Milchqualität verschlechternder Faktor das Hauptproblem dar. Zur Reduzierung der Mastitis-Problematik in der Milchwirtschaft wurde in Litauen das Programm zur Reduzierung des Mastitis-Auftretens sowie zur Steigerung der Milchqualität (lit. Karvių sergamumo mastitu mažinimo ir pieno kokybės gerinimo programa) verabschiedet (Erlass des Landwirtschaftsministers der Republik Litauen vom 24.05.2010 Nr. 3D-487).

Tabelle 2: Auftreten von Mastitis bei gesunden und an Leukose erkrankten Kühen

Kuhgruppe	Mastitis nicht diagnostiziert	Mastitis diagnostiziert
Gruppe ohne Spirulina-Zusatz	35	15
Gruppe mit Spirulina-Zusatz	45	5
$\chi^2 = 6,250; \text{DF} = 1, P = 0,012$		

Die Analyse zeigte jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Rassen.

Wie aus der Tabelle 2 hervorgeht, hatte *Spirulina platensis* positive Effekte auf die Resistenz gegen Mastitis ($P=0,012$). In der Kontrollgruppe wurden Mastitis-Erreger bei 30 Prozent der Tiere nachgewiesen, wobei in der Versuchsgruppe die lediglich bei 10 Prozent der Tiere der Fall war (Tabelle 2).

Darüber hinaus ergab die Analyse Unterschiede in der Verbreitung von Mastitis-Erregern bei den Gruppen. Der am häufigsten vorkommende Erreger *Staphylococcus aureus* wurde bei 24 Prozent der Versuchskühe bzw. bei 33 Prozent der Kontrollkühe nachgewiesen; *Staphylococcus spp.* entsprechend 21 und 26 Prozent; *Streptococcus uberis* entsprechend 25 und 10 Prozent.

Die gewonnenen Daten zeigen, dass infolge der Immunschwächung in der Gruppe ohne Zusatz von *Spirulina platensis* häufiger ansteckende Mastitis-Erreger vorkamen.

Schlussfolgerungen

Einsatz der Biomasse von *Spirulina platensis* hatte positive Einflüsse auf die Reduzierung der somatischen Zellzahl in der Kuhmilch. Sowohl bei Litauischen Schwarzbunten als auch bei Litauischen Roten Kühen konnten geringere Werte der somatischen Zellzahl in der Milch im Vergleich mit den Kontrollkühen festgestellt werden.

Spirulina platensis hatte positive Einflüsse auf die Resistenz der Milchkühe gegen Mastitis ($P = 0,012$). Davon zeigt der Nachweis von Mastitis-Erregern bei 10 Prozent der Versuchskühe mit Spirulina-Zusatz

im Vergleich mit 30 Prozent der an Mastitis erkrankten Kontrolltiere. Darüber hinaus wurden in der Kontrollgruppe häufiger ansteckende Mastitis-Erreger nachgewiesen. Dies bestätigt die Wirkung von *Spirulina*-Biomasse als Immunsystem stimulierendem Präparat.

Literatur

- Benemann J. R. Microalgae aquaculture feeds. *Journal of Applied Physiology*. 1992. Vol. 4. N. 3. P. 233-245
- Jatkauskas J., Vrotniakienė V., Kulpys J ir kt. Mitybos normos galvijams, kiaulėms ir paukščiams. Kaunas: „Leidykla“. 2002. P. 6-28
- Jerock H., Šeškevičienė J., Kulpys J. Žemės ūkio gyvulių ir paukščių mitybos fiziologinės reikmės. Kaunas, 2004. 158 p.
- Juozaitytė V., Kučinskienė J., Juozaitis A., Malevičiūtė J. Lietuvoje veisiamų juodmargių galvijų veislių įtakos somatinių ląstelių kiekiui piene įvertinimas. Lietuvos veterinarijos akademijos Mokslo darbai. Veterinarija ir zootechnika. Kaunas. 2004. T. 28 (50). P. 83-87
- Kupraš L. P., Čekman I. S., Gorčakova N. A. *Spirulina Platensis* ir sveikata // Ukrainos Medicinos mokslo akademija. Kijevas (Ukr. k.). 2003. 86 p.
- Lietuvos respublikos žemės ūkio ministerija. Karvių sergamumo mastitu mažinimo ir pieno kokybės gerinimo programa; 2010 metų gegužės 24 dien os įsakymas Nr. 3D-487)
- Praškevičius A., Ivanovienė L., Stasiūnienė N. ir kt. *Biochemija*. Kaunas, 2006. 360 p.
- Sederevičius A., Balsytė J., Lukauskas K., Kazlauskaitė J., Biziulevičius G.A. An enzymatic cow immunity- targeted approach to reducing milk somatic cell count :3. A comparative field trial // *Food and Agricultural Immunology*. 2006. Vol.17. No 1. P. 1-7
- Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2005. Vol. 101. Issue 2. P. 87-96
- Šimkus A., Lukšė R., Oberauskas V. ir kt. Mikrodumblis – *Spirulina Platensis* - melžiamų karvių racione // Moksl. konf. „Aktualios gyvulių ir paukščių mitybos problemos: alternatyvių pašarinių priedų pašariniams antibiotikams gyvūnų mityboje“. Kaunas, 2006. P. 10-11
- Vonshak A. *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology. CRC Press. 1997. 277 p.
- Мазо В. К., Гмошинский И. В. Микроводоросль спирулина в питании человека. *Вопросы питания*, 2004. Н. 1. С. 45-53
- Шимкус А., Заводник Л. Б., *Spirulina Platensis* в кормлении дойных коров // Мат. межд. конф. „Актуальные проблемы биологии в животноводстве“. Боровск, „урожай“, 2006. С. 132-134
- Шимкус А., Лукше Р., Заводник Л. Б., Юзайтене В., Шимкене А., Монкевичене И., Желвите Р. Применение микроводоросли *Spirulina Platensis* в кормлении телят // *Животновъ дни науки (Zhivotnov dni nauki)*, *Journal of animal science*. ISSN 0514-7441. 2005, vol XLII. No. 5. P. 40-44

Autorenanschrift

Prof. Dr. Vida Juozaitiene
Veterinärmedizinische Akademie der Litauischen
Universität für Gesundheitswissenschaften
Tilzes 18, Kaunas LT-47181, Litauen
E-Mail: biometrija@lva.lt

Antibiotic susceptibility of gut-derived lactobacilli from wild boar

Florian Gölß¹, Viviana Klose² and Gertrude Wegl²

¹ BIOMIN Research Center, Tulln, Austria

² Inst. for Environmental Biotechnology, Dep. for Agrobiotechnology, IFA-Tulln, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Tulln

Introduction

Overuse of antibiotics in animal breeding is very common. In non-European countries, antibiotic growth promoters are still used in animal nutrition for enhancing the animals' performance, but also to restrict the overgrowth of enteric pathogens in the livestock (Anonymous, 1999). As a consequence, antibiotic resistance is a well-known feature among intestinal bacteria, which could enter the food chain, when used as probiotic feed supplements for food-producing animals. Frequently occurring mobile elements make resistances transferable and thus antibiotic susceptibility is an important safety criterion for choosing strains as probiotic feed supplements. The increased detection of antibiotic resistances in lactobacilli of human and animal origin over the last years has raised questions regarding their safety (Danielsen and Wind, 2003, Korhonen et al., 2007). Recent efforts to obtain probiotic candidates from the digestive tract of pigs revealed that strains belonging to commonly used *Lactobacillus* species with probiotic features including the generation of antagonistic metabolites very often harbor acquired antibiotic resistances (Klose et al., 2010). However, there are no reports from wild animals in this regard. Based on a previous study, where a large number of lactobacilli (n=121) was isolated out of the intestinal tract of wild boars (Fibi et al., 2012), a safety assessment was performed with a selection of 14 strains belonging to the heterofermentative species *Lactobacillus reuteri*, which is frequently found in human and animal probiotic products. The aim of this study was to examine whether these strains meet the microbiological breakpoints published by the EFSA (European Food Safety Authorities) for assessing antibiotic susceptibility (EFSA, 2008). For this purpose, the minimum inhibitory concentration (MIC) of clinically relevant antibiotics as proposed by the EFSA was determined using the broth microdilution assay and the Etest.

Materials and methods

Within this study 14 previously isolated *L. reuteri* strains of a wild boar were analysed for their antibiotic susceptibility to ampicillin (Amp), chloramphenicol (Cmp), clindamycin (Cln), gentamicin (Gen), kanamycin (Kan), erythromycin (Ery), quinupristin + dalfopristin (Qui/Dal), streptomycin (Strep) and tetracycline (Tet).

Therefore, a broth microdilution assay as recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) was performed. LAB susceptibility test medium (LSM, Iso-sensitest 90% and MRS 10%) was used for cultivation (Klare et al., 2005). Some strains favored anaerobic conditions, therefore L-cysteine hydrochloride was used as supplement (0.3g/L). Briefly, an overnight culture of the respective isolate grown at 37°C was used to inoculate the main culture which was further incubated until an OD₆₉₀ of 0.1. Stock solutions of the tested antibiotics were prepared in the appropriate solvent, filter sterilized and stored at -20° before further usage. For the setup of the assay, working suspensions of the antibiotics in LSM were filled in the first row of a 96 well plate and a 2-fold dilution series of the respective antibiotics was prepared in the cultivation medium. After adding the bacterial culture to the

wells (ending up with final drug concentrations as given in Tab.1.), all plates were incubated under anaerobic conditions (N₂ atmosphere) at 37°C for 20 hours.

Table 1: Final drug concentration (mg L⁻¹) used in the microtiter plates

	<i>Amp</i>	<i>Cmp</i>	<i>Tet</i>	<i>Ery</i>	<i>Qui/Dal</i>	<i>Strep</i>	<i>Kann</i>	<i>Gen</i>	<i>Cln</i>
A ¹	8	32	32	8	16	128	64	64	4
B	4	16	16	4	8	64	32	32	2
C	2	8	8	2	4	32	16	16	1
D	1	4	4	1	2	16	8	8	0,5
E	0,5	2	2	0,5	1	8	4	4	0,25

¹ letters are indicating the rows of the 96 well plate

Growth controls without antibiotics and a negative control were included in the plate layout. To evaluate susceptibility of the lactobacilli strains, OD 690 was determined right after inoculation and after 20 hours. The plates were also evaluated optically after 20 hours. The MIC was read as the lowest concentration of a given antibiotic at which bacterial inhibition was apparent. To confirm results of the broth microdilution method, E-test stripes containing a stable gradient of antibiotic concentrations on a plastic strips were purchased (Biomérieux, France). Bacterial suspensions with a turbidity equivalent to McFarland standard 1 were streaked out onto LSM agar plates using a sterile cotton swab. After drying the surface of the plates, strips of antimicrobial agents were applied. The plates were incubated for 48 hours under the same conditions as for the microdilution assay. Finally, MIC values were read directly from the test strip according the guidelines given by the manufacturer. For both methods *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) was used as reference strain.

Results

The MIC results of both antibiotic susceptibility tests of 14 *L. reuteri* strains derived from the intestine of wild boars (using broth microdilution and Etest) are listed in Table 2, together with the categorization of the bacterial strains as "susceptible" (S) or "resistant" (R) to nine antibiotics of human and veterinary importance. The majority of *L. reuteri* strains showed susceptibility to a broader spectrum of antibiotics (including erythromycin, quinupristin/dalfopristin, clindamycin, ampicillin, chloramphenicol, streptomycin and gentamicin), respectively, with sometimes conflicting or method-relating results for ampicillin (n=6), chloramphenicol (n=5) and streptomycin (n=1). Higher MICs displaying atypical resistances were found in case of kanamycin for the majority of tested strains (only 3 were sensitive according to the Etest, none according to the microdilution test), but also for tetracycline (4 categorised as resistant according to Etest, 11 according to microdilution results). Quinupristin/dalfopristin resistance was not detected among all strains. Single uncertain resistances were obtained with the Etest for erythromycin, gentamicin and clindamycin for one test strain (code R8A).

Table 2: Comparison and interpretation of the broth microdilution and Etest MIC values of 9 antibiotic agents for 14 *L. reuteri* strains isolated from the intestinal tract of wild boars

<i>L. reuteri</i> strain	Amp		Cmp	Tet	Ery	Q/D	Strep	Kan	Gen	Cln
	EFSA breakpoint (2008)	2 mg/L	4 mg/L	16 mg/L	1 mg/L	4 mg/L	64 mg/L	16 mg/L	8 mg/L	1 mg/L
F2	MTP ¹	2/S	4/S	> 32/R	< 0.5/S	< 1/S	32/S	32/R-LL	< /= 4/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,75/S	3/S	32/R-LL	0,38/S	0,38/S	16/S	48/R	0,75/S	0,023/S
S2A	MTP ¹	1	4-8/S?	32/R-LL	< /= 0,5/S	< /= 1/S	32/S	64/R	< 4/S	0,5/S
	E-test ²	0,75/S	2/S	12/S	0,125/S	0,5/S	12/S	16/S	0,5/S	0,016/S
S4A	MTP ¹	1/S	< /= 2/S	4/S	< /= 0,5/S	< /= 2/S	32/S	32/R-LL	4/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,5/S	2/S	12/S	0,25/S	0,5/S	24/S	24/R-LL	0,32/S	0,023/S
S6	MTP ¹	4/R-LL	4/S	> 32/R	< /= 0,5/S	2/S	16/S	64/R	< /= 4/S	< 0,25/S
	E-test ²	1,5/S	4/S	32/R-LL	0,19/S	0,75/S	64/S	192/R-HL	3/S	< 0,016/S
S8	MTP ¹	4/R-LL	8/R-LL	32/R	1/S	2/S	128/R	> 64/R-HL	8/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,5/S	4/S	> 256/R	0,5/S	0,5/S	16/S	192/R-HL	1/S	0,023/S
S11A	MTP ¹	1/S	8/R-LL	> 32/R	1/S	2/S	32/S	32/R-LL	< 4/S	< 0,5/S
	E-test ²	0,5/S	1,5/S	2/S	0,094/S	0,25/S	6/S	12/S	0,25/S	0,016/S
S14B	MTP ¹	2/S	4/S	32/R	0,5/S	< 1/S	32/S	> 64/R	4/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,5/S	3/S	24/R-LL	0,75/S	0,75/S	32/S	96/R-HL	3/S	0,032/S
S21A	MTP ¹	1/S	8/R-LL	> 32/R-LL	< 0,5/S	< 1/S	32/S	> 64/R	4/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,5/S	1,5/S	4/S	0,19/S	0,5/S	12/S	32/R	0,75/S	0,016/S
S24A	MTP ¹	4/R-LL	8/R-LL	32/R-LL	< 0,5/S	< 1/S	16/S	32/R-LL	< 4/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,5/S	1,5/S	4/S	0,125/S	0,25/S	8/S	16/S	0,19/S	< 0,016/S
R8A	MTP ¹	4/R-LL	8/R-LL	> 32/R	< 0,5/S	< 1/S	32/S	64/R	< 4/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,75/S	3/S	6/S	3/R	3/S	64/S	24/R-LL	12/R-LL	4/R
R20	MTP ¹	4/R-LL	4/S	> 32/R	< 0,5/S	< 1/S	16/S	64/R	< 4/S	< 0,25/S
	E-test ²	1,5/S	4/S	16/S	0,38/S	0,38/S	48/S	256/R-HL	4/S	< 0,016/S
R22	MTP ¹	2/S	4/S	> 32/R	< 0,5/S	< 1/S	32/S	> 64/R	4/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,5/S	4/S	12/S	0,25/S	0,75/S	24/S	96/R	4/S	0,032/S
R31	MTP ¹	8/R	4/S	8/S	< 0,5/S	< 1/S	32/S	64/R	< 4/S	< 0,25/S
	E-test ²	0,75/S	2/S	4/S	0,19/S	0,5/S	12/S	32/R	0,5/S	0,023/S
R36	MTP ¹	1/S	< 2/S	16/S	< 0,5/S	< 1/S	> 128/R	> 64/R	8/S	n.a
	E-test ²	0,75/S	2/S	12/S	0,5/S	0,75/S	16/S	48/R	0,75/S	0,032/S

Strains with MICs higher than the breakpoints are considered as resistant (R) according to the EFSA breakpoints (EFSA, 2008), and marked in fat and grey.

Abbreviation of antimicrobials: Amp (ampicillin), Cmp (chloramphenicol), Tet (tetracycline), Ery (erythromycin), Q/D (quinupristin/dalfopristin), Strep (streptomycin), Kan (kanamycin), Gen (gentamicin), Cln (clindamycin).

Other abbreviations: R-LL: low level resistance; R-HL: high level resistance. MTP = microdilution in microtiterplate;

¹ reading of MTP after 20h

² reading of Etest after 48h

Discussion

Although members of the genus *Lactobacillus* (which can, beside their use in animal nutrition, also frequently be found in human probiotic products) are generally considered as safe, a certain concern is reasonable regarding their antibiotic resistance as they may act (like other commensal intestinal

bacteria) as reservoirs for acquired antibiotic resistance determinants. Among the *L. reuteri* test strains originating from wild boar only three revealed an overall sensitivity to all clinically relevant antimicrobials, based on the Etest results. The majority of strains exhibited a very prominent resistance to kanamycin, being sometimes even of high level (according to both methods for at least one strain, on basis of the Etest for four strains.). On the other hand, many strains showed susceptibility to a broader spectrum of antibiotics, indicating that the resistance levels are lower than those detected in *L. reuteri* strains of farm animals.

The agreement between the two methods was high for the antimicrobial agents erythromycin, quinupristin/dalfopristin, streptomycin, gentamicin and clindamycin. Weak correlation between E-test and broth microdilution were obtained with ampicillin, chloramphenicol and tetracycline. In general, lower MICs of these antibiotic agents were obtained with the Etest. In case of tetracycline, this phenomenon was also found in other evaluation studies (Mayrhofer et al., 2008). This insufficient correlation between the results further complicates the interpretation of data, and highlights the requirement of further evaluating the method performance in order to develop a standardized method for antimicrobial susceptibility testing of lactobacilli used as probiotics.

The present study was the first examination of antibiotic susceptibility of intestinal lactobacilli in wild boar. The animals lived in freedom, and, to our knowledge, they had not received any feed or antibiotics from humans during their lifetime. Wild boars are carnivorous and omnivorous, and this fact might explain the detection of antibiotic resistances, even when no known antibiotic pressure is applied. More detailed studies should be carried out with the *L. reuteri* strains derived from wild boar to investigate their nature of acquiring and disseminating antibiotic resistance determinants.

References

- ANONYMOUS, 1999. Antimicrobial resistance, an ecological perspective - report from the American Academy of Microbiology, ASM - Press, Washington, D. C.
- DANIELSEN, M. & WIND, A. 2003. Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *Int J Food Microbiol*, 82, 1-11
- EFSA, 2008. Technical guidance prepared by the Panel on Additives and Products or Substances in Animal Feed (FEEDAP) on the update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human and veterinary importance. The EFSA Journal 732, 1-15
- FIBI, S., GÖLB, F., BAYER, K., KERN, C., WEGL, G., KLOSE, V., 2012. Characterisation of lactobacilli isolated from wild boar for potential use as probiotic feed additive. 11. BOKU-Symposium Tierernährung: Die Zukunft der Tierernährung
- KLARE, I., KONSTABEL, C., MULLER-BERTLING, S., REISSBRODT, R., HUYS, G., VANCANNEYT, M., SWINGS, J., GOOSSENS, H. & WITTE, W. 2005. Evaluation of new broth media for microdilution antibiotic susceptibility testing of Lactobacilli, Pediococci, Lactococci, and Bifidobacteria. *Appl Environ Microbiol*, 71, 8982-6
- KLOSE, V., BRUCKBECK, R., HENIKL, S., SCHATZMAYR, G. & LOIBNER, A. P. 2010. Identification and antimicrobial susceptibility of porcine bacteria that inhibit the growth of *Brachyspira hyodysenteriae* in vitro. *J Appl Microbiol*, 108, 1271-80
- KORHONEN, J. M., SCLIVAGNOTIS, Y. & VON WRIGHT, A. 2007. Characterization of dominant cultivable lactobacilli and their antibiotic resistance profiles from faecal samples of weaning piglets. *J Appl Microbiol*, 103, 2496-503
- MAYRHOFER, S., DOMIG, K. J., MAIR, C., ZITZ, U., HUYS, G. & KNEIFEL, W. 2008. Comparison of broth microdilution, Etest, and agar disk diffusion methods for antimicrobial susceptibility testing of *Lactobacillus acidophilus* group members. *Appl Environ Microbiol*, 74, 3745-8

Corresponding author

Florian Gölb
 BIOMIN Holding GmbH
 BIOMIN Research Center
 Technopark 1
 A-3430 Tulln
 E-mail: florian.goelss@biomin.net

Characterisation of lactobacilli isolated from wild boar for potential use as probiotic feed additive

Silvia Fibi¹, Florian Gößl¹, Katharina Bayer², Corinna Kern², Gertrude Wegl² and Viviana Kloze²

¹ BIOMIN Research Center, BIOMIN Holding GmbH, Tulln

² Institute for Environmental Biotechnology, Department for Agrobiotechnology, IFA-Tulln, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Tulln

Introduction

Microorganisms contributing to a healthy gut flora are among the first candidates in the selection of “probiotics”. Especially lactobacilli are of interest, since they are common inhabitants of the gastrointestinal tract in animal livestock and have positive effects on gut function and healthiness. The widespread use of antimicrobials contributes to the emergence of resistant gut bacteria. In the very complex gut microenvironment, bacteria are able to exchange genetic elements (carrying e.g. antibiotic resistance genes) very easily, also to pathogens (though acquiring resistance plasmids costs bacteria energy, too). Former investigations have shown that especially in rearing pigs a lot of atypical antibiotic resistances are found in intestinal bacteria, most commonly to tetracycline and erythromycin (Jensen et al., 1999), and that also multi-resistant lactobacilli are prevalent. Acquired resistances to antimicrobials might give them a selective advantage as “gut competitors”, but constitute a major threat to human and animals. Although atypical resistances in lactobacilli have been reported frequently from various sources, there are no reports from wild boar in this regard. Thus, the primary aim of this work was to isolate and characterise strains belonging to vancomycin-resistant *Lactobacillus* species, commonly used as probiotics, from wild boar and to determine the prevalence of antibiotic resistances as well as the genetic determinants implicated.

Materials and methods

Isolation of bacterial strains was performed out of digesta of the small intestine derived from three wild boars (abbreviated as S (yearling), F (yearling) and R (full-grown)). The intestines were obtained immediately after the hunts (organised by different corporations of hunters in Lower Austria) and transferred to the laboratory, where they were opened under sterile conditions, and their contents used as inocula. Intestinal samples were diluted and transferred into enrichment medium (MRS from Oxoid supplemented with vancomycin, 16 mg L⁻¹), incubated 24 h at 42°C, and then spread onto AMRS agar (Oxoid) supplemented with triphenyltetrazolium chloride (TTC) and vancomycin (16 mg L⁻¹), being incubated 48 h at 42°C.

Colonies with distinct morphology were picked up, purified and further characterised by KOH test and catalase test. All strains were pre-screened for their antibiotic susceptibility by plating them out on MRS agar supplemented with erythromycin (6 mg L⁻¹) or tetracycline (8 mg L⁻¹), on basis of the breakpoint values for categorisation of feed additive lactobacilli as proposed by EFSA at the time of investigation (EFSA 2005). A second follow up- screening was done more recently using also the latest EFSA breakpoints (EFSA, 2008) for *L. reuteri* and other obligate heterofermentative *Lactobacillus* species by using erythromycin at 2 mg L⁻¹ and tetracycline at 32 mg L⁻¹, respectively. All strains were grouped into species clusters after visually examining the similarities of their whole-cell protein profiles

obtained by SDS-PAGE. Strain representatives of these clusters were further characterised by biochemical tests using the API 50 CH test (BioMérieux, France). Strain differentiation was done by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) PCR analysis using the Ready-to-Go Analysis Beads and primer 6 as recommended by the manufacturer (Amersham Biosciences). The RAPD fingerprints were analysed and clustered using the Gelcompar II software (Applied Maths, St-Martens-Latem, Belgium). The similarity among the digitised profiles was calculated using the Pearson correlation coefficient, and an average linkage (UPGMA) dendrogram was derived from the profiles. Species identification of cluster representatives was done by 16S rRNA gene sequence analysis. Amplification of the 16S rRNA gene was performed with a Mastercycler Gradient Thermocycler (Eppendorf, Vienna, Austria) using the eubacterial primers 27f and 1492r. Amplification products were purified with the QIAquick PCR Purification kit (Qiagen, Hilden, Germany) and directly sequenced at the LGCgenomics, Germany, using primers 27f and 341f for partial sequencing and 27f and 1492r for complete sequencing. 16S rRNA gene sequence similarity studies were carried out by using FASTA3 and BLAST.

All strains displaying phenotypic resistances to erythromycin and tetracycline were examined for acquired resistance determinants by PCR. The presence of the *erm*(B) and *ermAM* gene conferring resistance towards erythromycin was amplified by using published primers and amplification conditions (Aarestrup et al., 2000b, Aminov et al., 2002, Gevers et al., 2003, Lina et al., 1999, Shortridge et al., 1999). Tetracycline resistant strains were screened for *tetW* and *tet*(M) genes using the primers and conditions as described formerly (Aarestrup et al., 2000a; Aminov et al., 2001) (Table 1). All PCR assays were validated with strains carrying known genes (*ermAM*: *L. reuteri* DSM 8533, *erm*(B): *E. faecalis* DSM 12956, *tet*(M): *L. plantarum* LMG21677 and *tetW*: *L. johnsonii* C4CrBian4).

Table 1: Primer sequences

Primer	Sequence (5' -3')	Annealing	Amplicon size	Reference
<i>tet</i> (M)-FW ⁶	g ¹ gt ² a ³ aa tag tgt tc ⁴ t tgg ag	55°C	657 bp ⁵	Aarestrup et al., 2000
<i>tet</i> (M)-RV ⁷	cta aga tat ggc tct aac aa			
<i>tetW</i> -FW	gag agc ctg cta tat gcc agc	64°C	168 bp	Aminov et al., 2001
<i>tetW</i> -RV	ggg cgt atc cac aat gtt aac			
<i>erm</i> (B)-FW	ccg ttt acg aaa ttg gaa cag gta aag ggc	55°C	359 bp	Lina et al., 1999
<i>erm</i> (B)-RV	gaa tcg aga ctt gag tgt gc			
<i>ermAM</i> -FW	tca acc aaa taa taa aac aa	50°C	337 bp	Shortridge et al., 1999
<i>ermAM</i> -RV	aat cct tct tca aca atc ag			

¹ guanosine, ² thymidine, ³ adenine, ⁴ cytosine, ⁵ base pairs, ⁶ forward, ⁷ reversed

Results

A total of 121 vancomycin resistant *Lactobacillus* strains were recovered from the small intestine of the three wild boars (18 isolates from wild boar F, 46 from wild boar S, and 57 from wild boar R). All wild boar strains were grouped into species-affiliated clusters according to similarities in their whole cell protein profiles, and strains with more than 70% similarity were grouped and assigned to the same species (data not shown). More detailed genotyping on strain level was performed using RAPD PCR analysis. In agreement with previously collected experience, strains with more than 85% similarity in their RAPD PCR patterns were allocated to closely related genotypes. In total, 36 representative

genotypes were chosen and identified by using 16S rRNA gene analysis which confirmed the presence of three main species: i) *L. mucosae* (R: 47, F: 11 strains), ii) *L. reuteri* (R: 5, S: 43; F: 5 strains) and iii) *L. murinus* (S: 3 strains, F: 1 strain), with some representatives (n=8) showing highest similarities to sequences of both, *L. mucosae* and *L. fermentum* (detailed results are displayed in Table 2).

The phenotypical resistance screening showed that six strains (three *L. mucosae* and three *L. reuteri*) of wild boar F were resistant to tetracycline, one of the *L. mucosae* strains harboring the resistance gene *tetW*. Eight lactobacilli strains of wild boar S were found to be tetracycline resistant (six *L. reuteri* and two *L. mucosae*), and one *L. reuteri* strain turned out to be resistant to erythromycin. The *tetW* gene was detected in one *L. reuteri* strain. From wild boar R, 14 tetracycline resistant strains (2 *L. reuteri* and 12 *L. mucosae/L. fermentum*) and three erythromycin resistant strains (belonging to *L. mucosae/L. fermentum*) were obtained. The *tetW* determinant was found in two *L. reuteri* and three *L. mucosae* strains, respectively (Figure 1), and *tet(M)* was found in one *L. mucosae/L. fermentum* affiliated strain.

Table 3 displays the antibiotic resistances detected in the isolated strains in relation with their specific antibiotic resistant genotype (if detectable). Erythromycin resistances were rarely found, only in a minority of isolated strains (~ 2% in *L. reuteri*, ~ 6% in *L. mucosae* strains of two wild boars). None of the most frequently encountered macrolide resistance genes was detected in the erythromycin resistant wild boar strains. Contrarily, tetracycline resistances were shown in high percentages, even up to 60% in case of *L. reuteri*. The most distributed acquired tetracycline resistance gene was *tetW*, which was found either in *L. mucosae* as well as in *L. reuteri* affiliated strains.

Table 2: Clustering and classification of *Lactobacillus* representatives isolated from the intestinal tract of three wild boars on basis of RAPD-PCR genotyping and partial 16S rRNA gene sequence analysis

No of isolates per cluster	Code of representative	Sequencing primer - 16S rDNA length (nt ¹)	Similiarity %	Phylogenetic affiliation
1	F1	341f-820 nt	99	<i>L. murinus</i>
1	F2	27f/341f-750 nt	99,7	<i>L. reuteri</i>
2	F6A/B	341f-745 nt	99,9	<i>L. mucosae</i>
8	F10	27f/341f-1282 nt	100	<i>L. mucosae</i>
1	F14	341f-274 nt	100	<i>L. mucosae</i>
2	S1	341f-784 nt	99,6	<i>L. murinus</i>
7	S2A	27f/341f-1307 nt	99,9	<i>L. reuteri</i>
15	S4A	341f-923 nt	99,8	<i>L. reuteri</i>
1	S5	341f-820 nt	99	<i>L. murinus</i>
9	S6	341f-816 nt	99	<i>L. reuteri</i>
1	S7	27f/341f-1076 nt	99,5	<i>L. mucosae / L. fermentum</i>
1	S8	341f-642 nt	99,7	<i>L. reuteri</i>
2	S9	27f-416 nt	97	<i>L. murinus</i>
7	S11A	341f-918 nt	99	<i>L. reuteri</i>
1	S14B	27f/341f-1309 nt	99,9	<i>L. reuteri</i>
5	S20B	341f-961 nt	100	<i>L. mucosae / L. fermentum</i>
7	S21A	341f-810 nt	99,9	<i>L. reuteri</i>
7	S21C	341f-910 nt	99	<i>L. reuteri</i>
1	S22A	341f-431 nt	99,9	<i>L. mucosae?</i>
9	S24A	27f/341f-679 nt	99,9	<i>L. reuteri</i>
6	R8A	341f-820 nt	99	<i>L. reuteri</i>
1	R10B	341f-923 nt	100	<i>L. mucosae / L. fermentum</i>
2	R11A	341f-904 nt	100	<i>L. fermentum</i>
1	R15B	341f-927 nt	100	<i>L. mucosae / L. fermentum</i>
4	R16A	27f-416 nt	100	<i>L. mucosae</i>
2	R20	341f-745 nt	99,7	<i>L. reuteri</i>
1	R21B	341f-889 nt	100	<i>L. fermentum</i>
2	R22	341f-895 nt	99	<i>L. reuteri</i>
2	R23A	341f-937 nt	99	<i>L. mucosae / L. fermentum</i>
2	R25A	27f-418 nt	99	<i>L. mucosae</i>
1	R30	341f-925 nt	99	<i>L. mucosae / L. fermentum</i>
6	R31	341f-727 nt	99,9	<i>L. reuteri</i>
1	R33	341f-842 nt	99	<i>L. mucosae / L. fermentum</i>
1	R35	341f-900 nt	100	<i>L. mucosae / L. fermentum</i>
6	R36	341f-820 nt	99	<i>L. reuteri</i>
1	R37B	341f-771 nt	99,9	<i>L. mucosae</i>

¹nucleotides

Table 3: Antibiotic resistances in 121 lactobacilli of different species affiliation, isolated from intestinal samples of three wild boars

	No. (percentages) of lactobacilli of different species showing antibiotic resistances							
	Wild boar F			Wild boar S			Wild boar R	
Antimicrobial	<i>L. mucosae</i> n=12	<i>L. reuteri</i> n=5	<i>L. murinus</i> n=1	<i>L. mucosae</i> * n=9	<i>L. reuteri</i> n=43	<i>L. murinus</i> n=3	<i>L. mucosae</i> * n=47	<i>L. reuteri</i> n=5
Erythromycin	none	none	none	none	1 (2.3%)	none	3 (6.4%)	none
Genes detected	-	-	-	n.d.	n.d.	-	n.d.	-
Tetracycline	3 (25 %)	3 (60%)	none	2 (22.2%)	6 (13.9 %)	none	12 (2.5%)	2 (40%)
Genes detected	1 (tetW)	n.d.	-	n.d.	1 (tetW)	-	3 (tetW) 1 (tetM)	2 (tetW)

**L. mucosae*/*L. fermentum*

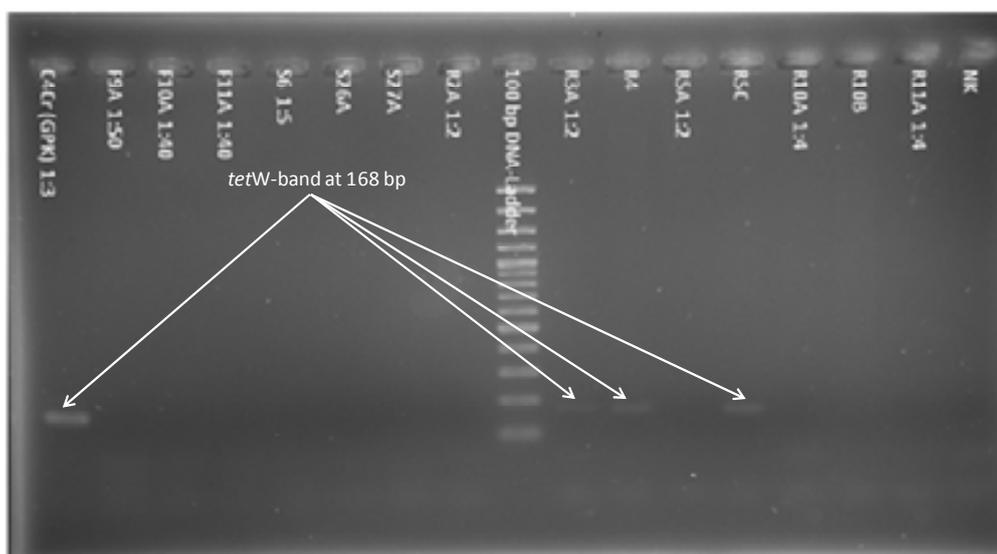


Figure 1: Genotypic detection of the *teW* resistance gene (168 bp amplicon) by PCR according to Aminov et al. 2001

Discussion

Our isolation procedure in wild boar focused on intestinal, vancomycin-resistant *Lactobacillus* species, frequently used as probiotics (e.g. *L. reuteri*). Also, the antibiotic resistance genes tested (*erm(B)*, *ermAM*, *teW* and *te(M)*) were selected because they have been previously reported to be commonly found genetic determinants encoding acquired macrolide and tetracycline resistance in animal isolates (Jensen et al. 1999).

Our results indicate that lactobacilli from the intestinal tract of wild boars might constitute a reservoir of antimicrobial resistances. On the other hand, especially for erythromycin, the resistance levels seem to be lower than those detected in lactobacilli of reared pigs. However, as only a limited number of antibiotics were included in this preliminary screening, the data of the present study are not sufficient enough to draw any conclusion on the antibiotic resistance situation in intestinal lactobacilli from wild boars. More detailed investigations should be carried out with the wild boar-derived lactobacilli to exclude other clinically important antibiotic resistances (e.g. chloramphenicol, aminoglycosides) as well as other genes associated with the dissemination of these resistances (Gölß et al. 2012).

References

- AARESTRUP, F. M., AGERS, L. Y., AHRENS, P., JC, J. L., MADSEN, M. & JENSEN, L. B. 2000a. Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in staphylococci from poultry. *Vet Microbiol*, 74, 353-64
- AARESTRUP, F. M., AGERSO, Y., GERNER-SMIDT, P., MADSEN, M. & JENSEN, L. B. 2000b. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 37, 127-37
- AMINOV, R. I., CHEE-SANFORD, J. C., GARRIGUES, N., TEFEREDEGNE, B., KRAPAC, I. J., WHITE, B. A. & MACKIE, R. I. 2002. Development, validation, and application of PCR primers for detection of tetracycline efflux genes of gram-negative bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 68, 1786-93
- AMINOV, R. I., GARRIGUES-JEANJEAN, N. & MACKIE, R. I. 2001. Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins. *Appl Environ Microbiol*, 67, 22-32
- EFSA, 2008. Technical guidance prepared by the Panel on Additives and Products or Substances in Animal Feed (FEEDAP) on the update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human and veterinary importance. *The EFSA Journal* 732, 1-15
- GEVERS, D., HUYS, G. & SWINGS, J. 2003. In vitro conjugal transfer of tetracycline resistance from *Lactobacillus* isolates to other Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 225, 125-30
- JENSEN, L. B., FRIMODT-MOLLER, N. & AARESTRUP, F. M. 1999. Presence of *erm* gene classes in gram-positive bacteria of animal and human origin in Denmark. *FEMS Microbiol Lett*, 170, 151-8
- LINA, G., QUAGLIA, A., REVERDY, M. E., LECLERCQ, R., VANDENESCH, F. & ETIENNE, J. 1999. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*, 43, 1062-6
- SHORTRIDGE, V. D., DOERN, G. V., BRUEGGEMANN, A. B., BEYER, J. M. & FLAMM, R. K. 1999. Prevalence of macrolide resistance mechanisms in *Streptococcus pneumoniae* isolates from a multicenter antibiotic resistance surveillance study conducted in the United States in 1994-1995. *Clin Infect Dis*, 29, 1186-8

Corresponding author

Silvia Fibi
BIOMIN Holding GmbH
BIOMIN Research Center
Technopark 1
3430 Tulln, Austria
e-mail: silvia.fibi@biomin.net

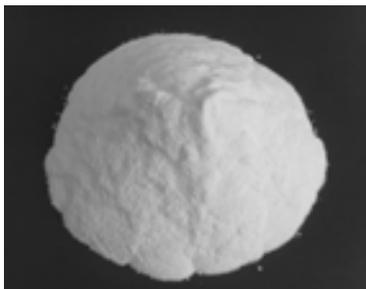
Rumen Specific Yeast improves efficiencies of the rumen and of feed of commercial dairy cows in a better manner than sodium bicarbonate

Eric Chevaux and Mary B. De Ondarza

Lallemand SAS

Introduction

Sodium bicarbonate has been given to dairy cows for many years as a rumen buffer. It also to be noticed that supplementation represents small amount versus what is produced by the saliva: milk cows can produce up to 150 L of alkaline saliva daily. Levucell SC has been shown to positively affect the rumen microbial population, controlling rumen pH, and in turn, dairy cattle performance. Recently, trials showed extra rumen pH and production benefits of live yeast added to lower forage dairy cow rations already containing sodium bicarbonate (Bach et al., 2007, Thrune et al. 2009). With improvements in forage fiber digestibility and increases in grain prices, ration forage content has increased on many dairies in recent years, making any enhancements in fiber digestibility even more critical.



Objectives of the study: To evaluate the impact of Levucell SC on acidosis prevention in real commercial farm with innovative pH bolus sensor. To evaluate effect of Levucell SC on feed efficiency of high producing dairy cows in comparison to sodium bicarbonate as positive control.

Materials and methods

Location: commercial free-stall dairy barn, Vermont, North East USA

Period: Spring 2011, 11-week trial, with 6 weeks adaptation, and 5 weeks for measurement

Animals: 120 multiparous cows divided in 2 groups

Diets: bunk corn silage (32.5 %), bunk haylage (22.5%), ground corn meal (16.8%) and a protein mineral blend. TMR contained 17.8% CP, 19.8% ADF, 32.8% NDF, 27.3% starch & 39.9% NFC (DM basis).

Treatments: Levucell SC: fed at 0.5 gram per head daily, (no sodium bicarbonate).

Sodium bicarbonate: fed at 170 g per head daily (no Levucell SC 1077).

Measurements: Ruminal pH profile using Kahne bolus probes, (4 cows per treatmentmatter intake, individual milk yield, milk components, & SCC.

Results and discussion

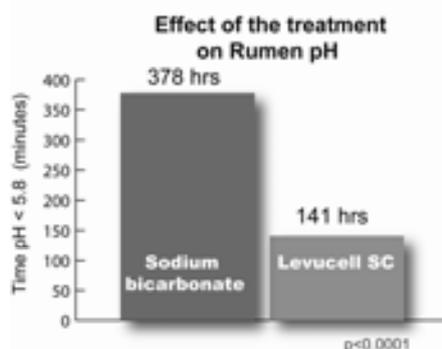
Effects on rumen pH

Using the Kahne bolus pH probes showed that Levucell SC had a highly significant effect (***) $p < 0.0001$) on all the rumen pH : minimum and maximum daily rumen pH was always higher for the cows fed Levucell SC compared to bicarbonate.

Rumen pH	Levucell SC	Sodium Bicarbonate
Mean Daily pH	6.22 ± 0.01	6.03 ± 0.01 ***
Min. Daily pH	5.54 ± 0.01	5.34 ± 0.01***
Max. Daily pH	6.98 ± 0.02	6.81 ± 0.02***
Time pH <5.8 (mn)	141 ± 14	378 ± 14***

*** $P < 0.0001$

The duration of SARA challenge, (pH <5.8), was significantly less with the Levucell SC fed cows, the bicarbonate fed cows taking 2.6 X longer to recover back to pH 5.8.

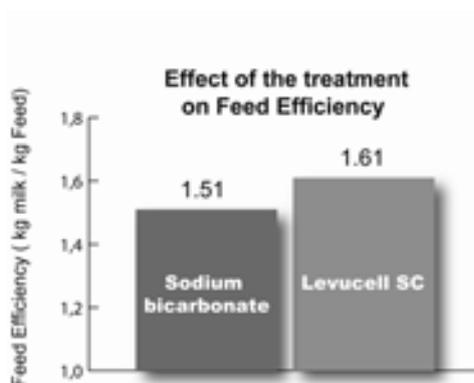


These improvements in rumen pH with Levucell SC are similar to those seen in previous studies, confirming that live yeast reduces the risk of rumen acidosis. The range of daily pH was not affected by treatment (1.44 vs. 1.46 for Levucell SC vs. sodium bicarbonate, respectively) ($P = 0.58$).

However, Marden et al (2008) did not see a pH effect between live yeast and sodium bicarbonate, but the redox potential was lowered with the live yeast and NDF digestion was increased. This suggests a role of the live yeast on the fibrolytic flora enhancement, as opposed to a more exogenous buffer action for bicarbonate.

Effects on dairy performance:

Compared to sodium bicarbonate, Levucell SC led to:
 Numerically higher average daily milk yield: +2.08kg/d, ($P = 0.089$)
 3.8% higher milk components yield (fat & protein combined)
 4.5% higher feed conversion ratio: +93g milk/kg feed



Milk Yield & Components	Levucell SC	Sodium Bicarbonate	P
Pen DMI (kg/day)	26.1 ± 0.3	26.3 ± 0.3	<0.05
Milk Yield (Kg/day)	41.9 ± 0.9	39.8 ± 0.9	P<0.10
Milk Fat %	3.62 ± 0.07	3.65 ± 0.07	=0.79
Milk Protein%	2.98 ± 0.02	3.01 ± 0.02	=0.34
Milk Solids (kg/day)	2.82	2.71	-
Feed Efficiency	1.61	1.51	
FCR (DMI/kg milk solids)	9.84	10.32	
SCC (*1000)	80.1 ± 49.1	245.5 ± 49.1	P<0.05

Effects on SCC:

Overall, somatic cell count (SCC x 1000) was lower ($P<0.05$) for cows supplemented with Levucell SC (80.1) than for cows supplemented with sodium bicarbonate (245.5). Pre-trial SCC was not a significant covariate in the analysis of milk yield or 3.5% FCM. There is no apparent biological reason for this difference to be due to study treatments or management.

Conclusions

These results indicate that for high lactating dairy cows fed a high starch diet (27.3%), Levucell SC at 0.5 gram/cow/day (1×10^{10} cfu) has significantly raised pH, increased milk yield (+2,08 kg) and feed efficiency (+93 g/kg feed). Overall, this supports the positive action that live yeast Levucell SC seems to have on SARA prevention and fibrous diet optimization for dairy cows.

Corresponding author

Eric Chevaux
Lallemand SAS
19, rue des Briquetieres
31702 Blagnac Cedex, France
E-mail: animal@lallemand.com



Lallemand is a privately held Canadian company, founded at the end of the 19th century, specializing in the development, production, and marketing of yeasts and bacteria.

Our objective is to develop and offer products and services that will bring value to the producer in a way that respects the environment and the equilibrium of ecosystems, at the same time answering consumers' growing demand for safe and natural food ingredients.

Our products do this by revealing and optimizing the existing potential of animals in terms of health and performance.

"animal sanum in natura sana"

Probiotics



Rumen Specific Live Yeast: *Saccharomyces cerevesiae* CNCM I-1077

- Increased rumen development and function
- Increased fiber digestibility
- Increased rumen pH



Specific Live Yeast for monogastrics: *Saccharomyces c. boulardii* CNCM I-1079

- Reorientation of the intestinale flora
- Improve of Colostrum quality and intake
- Better feed intake



Lactic acid Bacteria for monogastrics: *Pediococcus acidilactici* (MA18/5M)

- Promote beneficial intestinal flora
- Improvement in feed digestibility
- Pathogenic resistance

High Value Yeast Derivates



Inactivated Yeast *Saccharomyces cerevesia* R397 enriched in organic selenium

- Reinforce immunity
- Improved fertility
- Increase product quality (meat, milk, egg)



Yeast cell wall, combination of high level Mannans (MOS) and β -Glucans

- Protect the small intestine against pathogens
- Favors feed intake
- Strengthen animal in critical period

Evaluierung des Einflusses von verschiedenen Hefeprodukten auf die Pansen-Fermentation *in vitro*

Christian Stoiber, Ilse Dohnal, Anja Ganner und Gerd Schatzmayr

BIOMIN Research Center, Tulln, Österreich

Einleitung und Aufgabenstellung

Die gesundheitsfördernde Wirkung von Hefe ist seit langer Zeit bekannt und verschiedene Hefeprodukte, sowohl Lebendhefe als auch inaktivierte Hefederivate, werden in der Tierernährung eingesetzt. Die Wirkungsmechanismen dieser Produkte in Rindern sind nur zum Teil geklärt. Vermutlich dienen die Bestandteile der Hefezellen (unter anderem B-Vitamine, Peptide, Aminosäuren und Kohlenhydrate) als Nährstoffquelle für Mikroorganismen im Pansen (Oeztuerk *et al.* 2005), darüber hinaus sollen Lebendhefeprodukte den Sauerstoffgehalt im Pansen reduzieren und damit das Wachstum von strikt anaeroben Mikroorganismen begünstigen (Newbold *et al.* 1996). Eine derart stabilisierte Pansenflora fördert die Gesundheit und verbessert die Leistungsparameter beim Rind.

Zur Evaluierung dieser Effekte von Hefen auf die Pansenfermentation wurde Pansensaft zusammen mit Puffer und frischem Trockenfutter (Heu und Kraftfuttermischung) und unter Zugabe von Hefeproben aus den Produktgruppen Lebendhefe und inaktivierte Hefederivate als batch-Fermentation inkubiert und folgende Pansen-Fermentationsparameter bestimmt: pH-Wert, gebildetes Ammonium, anaerobe Gesamtkeimzahl und produzierte organische Säuren (Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und Milchsäure).

Material und Methoden

Pansensaft wurde mittels Auspressen von Panseninhalt eines frisch geschlachteten Stieres in der Fleischerei Schmözl in Tulln (NÖ) gesammelt, gesiebt und in verschraubbaren Plastikflaschen bei -20°C gelagert. Für die durchgeführten Experimente wurde der Pansensaft auf Raumtemperatur gebracht und jeweils 50 mL zusammen mit 0,5 g gemahlenem Heu, 0,5 g Kraftfuttermischung (48% Weizen, 30% Mais, 20% Soja, 0,6% Natriumdihydrogenphosphat, 0,6% NaCl und 0,8% Voramin Bovi Mast), 50 mL Puffer (12,37 g/L Na₂CO₃, 3,69 g/L Na₂HPO₄*2H₂O, 0,47 g/L NaCl, 0,57 g/L KCL, 0,05 g/L CaCl₂*2H₂O, 0,128 g/L MgCl₂*6H₂O, mit konz. HCl eingestellt auf pH 7) und entsprechender Menge an Hefeprobe (bzw. Positivkontrolle) in 100 mL Schott-Flaschen vermengt. Als Hefeproben wurden drei Hefederivate, nämlich Levabon® Rumen (Hefe mit speziellem Autolyseverfahren behandelt) und zwei weitere kommerziell erhältliche Hefederivate, sowie ein Lebendhefeprodukt verwendet. Die verwendeten Konzentrationen ergaben sich aus den jeweiligen empfohlenen Einsatzmengen am lebenden Tier. Als Positivkontrolle wurde der Ionophor Monensin eingesetzt (Dennis & Nagaraja 1981).

Die Flaschen wurden mit Septum-Deckeln verschlossen und mit einem wassergefüllten Gärröhrchen ausgestattet um den Austrag von produziertem Gas zu ermöglichen. Zur Inkubation bei 39°C wurden die Flaschen auf eine Multi-Magnet-Rührplatte gestellt und unter Rühren in einem temperierten Wasserbad positioniert. Zu den Zeitpunkten 0 und 24 Stunden wurden mittels Kanüle 2,5 mL Fermentationsbrühe entnommen.

Nach erfolgter Messung des pH-Werts wurden 1,5 mL der abgesaugten Probe in ein Eppendorf-Röhrchen transferiert, bei 16.600 x g für 30 min zentrifugiert und der Überstand für die Bestimmung von produziertem Ammonium und organischen Säuren verwendet. Ammonium wurde unter Verwen-

ung eines NH_4^+ Testkits von VWR und photometrischer Messung quantifiziert. Zur Bestimmung der organischen Säuren wurde die Probe mit 5 mM Schwefelsäure verdünnt, der Carrez-Fällung unterzogen und mittels HPLC mit Brechungsindex-Detektor analysiert. 1 mL der abgesaugten Probe wurde zur Herstellung einer Verdünnungsreihe mit 0,9% NaCl-Lösung verwendet und die anaerobe Gesamtkeimzahl mittels Plattengussverfahren unter Verwendung von Rumen-Bakterien-Agar (DSMZ-Medium 330) bestimmt.

Ergebnisse

Der pH-Wert der Fermentationsbrühe blieb mit einer Ausnahme von den verwendeten Proben unbeeinflusst und lag bei etwa 5,8. Hefederivat 2 senkte den pH-Wert auf ca. pH 5 nach 24 h Fermentation. Grund für diese pH-Wert-Erniedrigung dürfte eine erhöhte Produktion von Milchsäure sein (Abbildung 1).

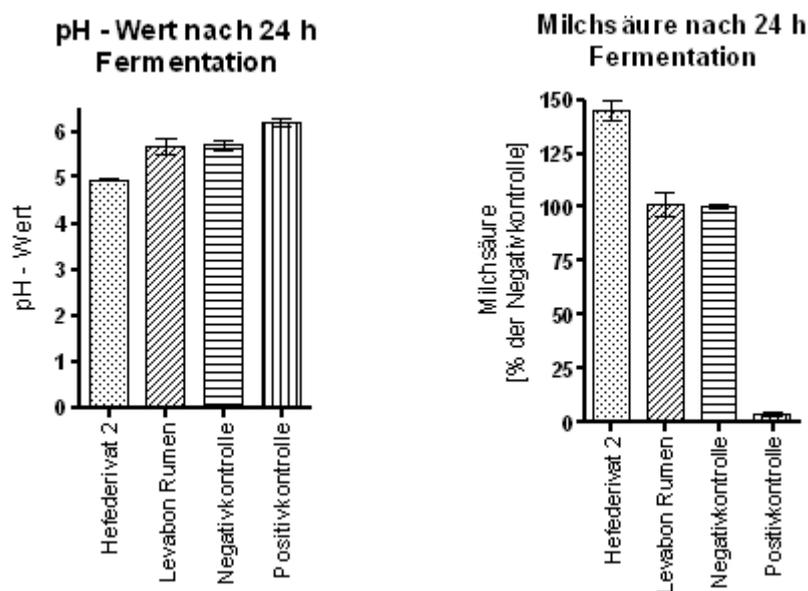


Abbildung 1: pH-Wert (links) und produzierte Milchsäure (rechts) nach 24 h Fermentation, Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung der Einzelwerte

Damit einhergehend wurde eine verminderte Propionsäure-Produktion und gleichzeitig eine Erhöhung des Essigsäure / Propionsäure-Verhältnisses beobachtet (Abbildung 2).

Das Verhältnis Essigsäure / Propionsäure wurde, abgesehen von Hefederivat 2, von keiner eingesetzten Hefeprobe beeinflusst. Bei der Bestimmung von Buttersäure und Essigsäure konnte kein Effekt von Hefen auf die Pansenfermentation festgestellt werden. Ebenso wurde bei der Quantifizierung von produziertem Ammonium keine Beeinflussung durch Hefen nachgewiesen.

Die Bestimmung der anaeroben Gesamtkeimzahl (Abbildung 3) zeigte, dass Levabon® Rumen als einziges Hefeprodukt eine Erhöhung der Keimzahl bewirkte (Erhöhung um Faktor 2). Der Einsatz der Positivkontrolle Monensin resultierte ebenfalls in erhöhten Gesamtkeimzahlen (Erhöhung um Faktor 4).

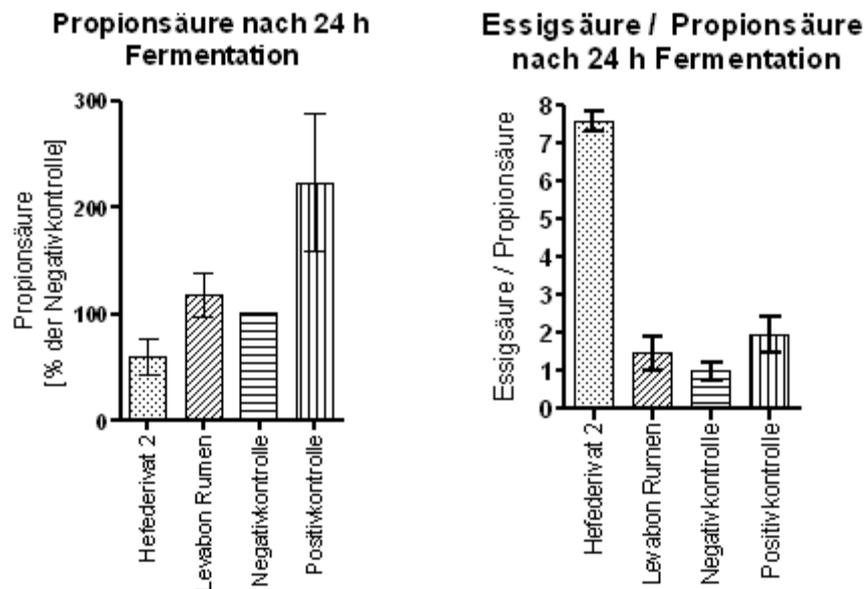


Abbildung 2: produzierte Propionsäure (links) und Verhältnis Essigsäure / Propionsäure (rechts) nach 24 h Fermentation, Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung der Einzelwerte

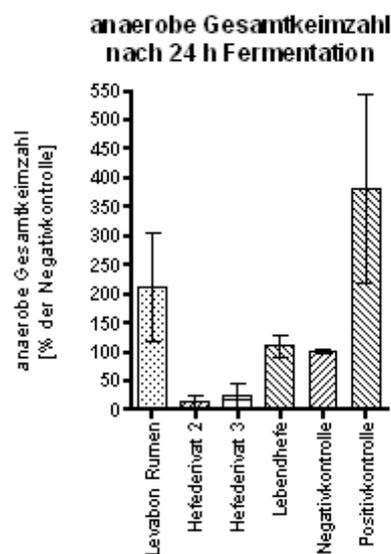


Abbildung 3: anaerobe Gesamtkeimzahl nach 24 h Fermentation, Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung der Einzelwerte

Beim Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Wiederholungen des Experiments konnten verschiedene Trends in den Absolutwerten beobachtet werden. Mit zunehmender Dauer der Lagerung des Pansen-saftes bei -20°C wurden beispielsweise die 24 h-Werte von Propionsäure verringert, während die produzierte Menge an Milchsäure zunahm (Abbildung 4).

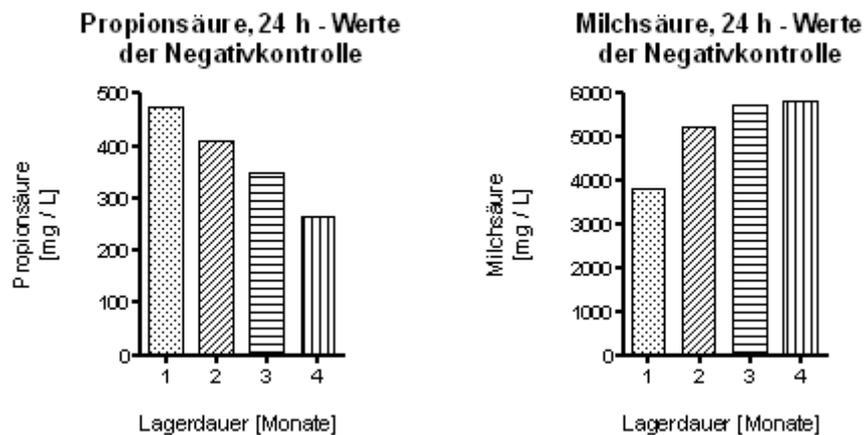


Abbildung 4: 24 h-Werte Propionsäure (links) und Milchsäure (rechts) der Negativkontrolle nach 24 h Fermentation versus Lagerdauer des verwendeten Pansensaftes bei -20°C

Diskussion

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass die Pansen-Fermentationsparameter durch die verschiedenen Hefeprodukte unterschiedlich stark beeinflusst werden. Die Ergebnisse zeigen, dass sich die untersuchten Hefeprodukte innerhalb einer Produktgruppe ähnlich stark oder stärker unterscheiden als die Produktgruppen (Lebendhefe und inaktivierte Hefederivate) untereinander. Vor allem die Bestimmung von pH-Wert, organischen Säuren und Ammonium zeigte, dass die Unterschiede zwischen den einzelnen Hefeprodukten meist nicht groß genug sind, um natürliche Schwankungen aus dem Testsystem bzw. Messunsicherheiten zu übertreffen. Die größten Unterschiede zwischen den einzelnen Hefeprodukten zeigte die Bestimmung der anaeroben Gesamtkeimzahl. Die Verwendung von Levabon[®] Rumen resultierte in einer Erhöhung der Keimzahl (um Faktor 2, verglichen mit Negativkontrolle), während andere Hefeprodukte keinen Effekt hatten.

Abgesehen von den bestimmten Fermentationsparametern zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass die Lagerung bei -20°C eine Veränderung des Pansensaftes hinsichtlich mikrobiologischer und/oder chemischer Zusammensetzung nicht verhindern kann. Vor allem die Daten der organischen Säuren zeigen, dass durch die Lagerung offenbar eine Verschiebung der Mikroorganismen-Populationen in Richtung Milchsäure-produzierende Pansenbakterien stattfindet. Darüber hinaus konnte beobachtet werden, dass mit zunehmender Lagerdauer des Pansensaftes die Standardabweichungen der Resultate geringer werden, wodurch die Ergebnisse reproduzierbarer scheinen. Gleichzeitig wurde aber auch eine Verringerung des jeweiligen Effektes der zugesetzten Hefeproben festgestellt wodurch mit zunehmendem Alter des Pansensaftes auch die Möglichkeit zur Beeinflussung der Pansenfermentation abnimmt. Für zukünftige Experimente könnte dieses Phänomen umgangen werden, indem für jede Wiederholung frischer Pansensaft verwendet wird. Dies würde jedoch die Reproduzierbarkeit der einzelnen Wiederholungen vermindern, da durch die Verwendung von Pansensaft von verschiedenen Tieren die biologische Variabilität in die Ergebnisse mit einfließen würde. Geeigneter wäre also die Verwendung von Panseninhalt einer fistulierten Kuh mit standardisierter Futtergabe.

Eine Limitierung dieser Studie zur Evaluierung des Einflusses von Hefeprodukten auf die Pansenfermentation ist die batch-Fermentation. Dadurch kann es einerseits zu einer Knappheit an Nährstoffen für die vorhandene Mikroorganismen-Flora kommen, aber vor allem auch zur zwangsläufigen Anrei-

cherung von Abbauprodukten in der Fermentationsbrühe. Steigende Konzentrationen von organischen Säuren führen zu einem rapide abnehmenden pH-Wert (in dieser Studie bis zu pH 5 innerhalb 24 h). Die dadurch bedingte Veränderung in der mikrobiellen Zusammensetzung verfälscht die Fermentationsparameter (z.B. erhöhte Milchsäureproduktion durch säureresistentere Spezies) und repräsentiert nicht länger einen gesunden Pansen sondern entspricht einer Pansenazidose. Für weiterführende Untersuchungen sollte also auf eine kontinuierliche Kultur mit Frischfutter-Zufuhr sowie automatischem Austrag von Abbauprodukten (ähnlich zu RUSITEC-Anlagen, Czerkawski & Breckenridge 1977) umgestiegen werden, damit die natürliche Pansenfermentation besser simuliert werden kann.

Literatur

Czerkawski, J.W. and Breckenridge, G (1977) Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). Br. J. Nutr. 38, 371-384

Newbold, C.J., Wallace, R.J. and McIntosh, F.M. (1996) Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. Br. J. Nutr. 76, 249-261

Oetzuerk, H., Schroeder, B., Beyerbach, M. and Breves, G. (2005) Influence of Living and Autoclaved Yeasts of *Saccharomyces boulardii* in In Vitro Ruminal Microbial Metabolism. J. Dairy Sci. 88, 2594-2600

Dennis, S.M. and Nagaraja, T.G. (1981) Effect of Lasalocid or Monensin on Lactate-Producing or Using Rumen Bacteria. J. Anim. Sci. 52, 418-426

Autorenanschrift

Christian Stoiber, M.Sc.
BIOMIN Holding GmbH
BIOMIN Research Center
Technopark 1, A-3430 Tulln an der Donau
E-Mail: christian.stoiber@biomin.net

Pansen im Gleichgewicht – Neue praktisch relevante Wege in der Azidoseprävention

Susanne Kirwan

Dr. Eckel GmbH, Niederzissen, Deutschland

Einleitung

Weniger Klauenprobleme, gute Fruchtbarkeit und ausreichende Futteraufnahme sind für moderne Hochleistungskühe größere Herausforderungen als Milchhaltsstoffe oder Leistung. Bis zu 14% der Morbiditätskosten entstehen durch subakute und akute Azidose (Stone, 1999). Als metabolische Erkrankung bekannt, korreliert Pansenazidose signifikant mit Klauenproblemen, Fruchtbarkeitsstörungen und einer Reduktion der Futteraufnahme. Selbst eine perfekte Rationsplanung, um den hohen Energiebedarf der Milchkuh zu decken, stellt ein hohes Risiko für subakute oder akute Azidose und die daraus resultierenden Probleme (SARA) dar (Abb. 1).

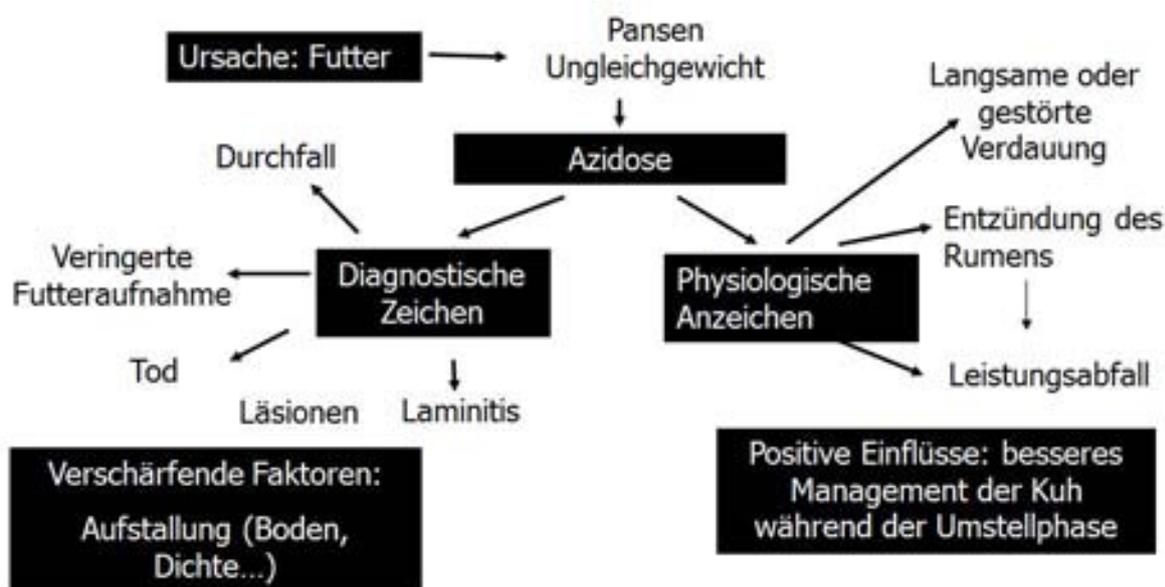


Abbildung 1: Azidose und die Konsequenzen

Hintergrund

Die Effekte der ruminalen Azidose wirken sich auf das ganze metabolische System des Wiederkäuers aus, besonders Fruchtbarkeit kann schon von einer SARA negativ beeinflusst werden (Abb. 2).

Es gibt drei Hauptansätze zur pH Stabilisierung in Wiederkäuerrationen: chemische Puffer, Lebendhefen, strukturwirksame Fasern (peNDF). Während alle diese Methoden wissenschaftlich dokumentiert sind, sind sie oft in der Praxis schwer umsetzbar.



Abbildung 2: Fruchtbarkeit, direkte Auswirkung eines stabilen Pansens

Chemische Puffer wie Natriumbicarbonat werden in den wirklich benötigten Mengen (>180g/Tier/Tag) schwer aufgenommen und in der Praxis oft unterdosiert. Lebendhefen erfüllen die pH-Stabilisierung, sind aber anspruchsvoll in der Verarbeitung und können nicht in jedes Futtermittel integriert werden. Strukturwirksame Faser ist effektiv und wird über TMR Rationen gut angenommen. Die Herausforderung dabei ist jedoch, die ausreichende peNDF Versorgung bereitzustellen, ohne den Energiegehalt des Futters abzusenken.

Neuer Ansatz und Versuche

Eine weitere Stoffgruppe, die unerwartet zur Regulierung des Pansen pH-Wertes in Frage kommt, sind organische Säuren.

Die mikrobielle Flora im Pansen stellt ein komplexes Ökosystem dar, welches unter guten Bedingungen eine Vielzahl fermentierbarer Substrate höchst effektiv in organische Säuren umsetzt. Die Regulierung des pH-Wertes erfolgt dabei im Wesentlichen über drei Stoffwechselwege, an denen unterschiedliche Mikroorganismen beteiligt sind (Nagaraja und Titgemeyer, 2007). Vier wichtige Organismen in diesen Stoffwechselwegen, welche beschrieben sind, sind *Streptococcus bovis*, *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium* und *Veillonella parvula*.

Bei normalen Gehalten an leicht fermentierbarem Material im Rumen produzieren *Streptococcus bovis* und *Lactobacillus* ssp. Milchsäure, welche dann aber unmittelbar von *Selenomonas ruminantium* und *Megasphaera elsdenii* zu Propionsäure umgesetzt wird. Verschiebt sich die Ration jedoch in richtig leicht fermentierbare Energie, verringert sich die Aktivität der Milchsäure verarbeitenden Bakterien. Milchsäuregehalte im Pansen steigen an und eine azidotische Situation entsteht. Durch ihre Position im Krebszyklus verschiedener Mikroorganismen haben Fumarsäure und Äpfelsäure eine besondere Rolle in der Fermentation, um das Potential der Milchsäure abbauenden Bakterien zu fördern (Martin 1998, Mao et al. 2007).

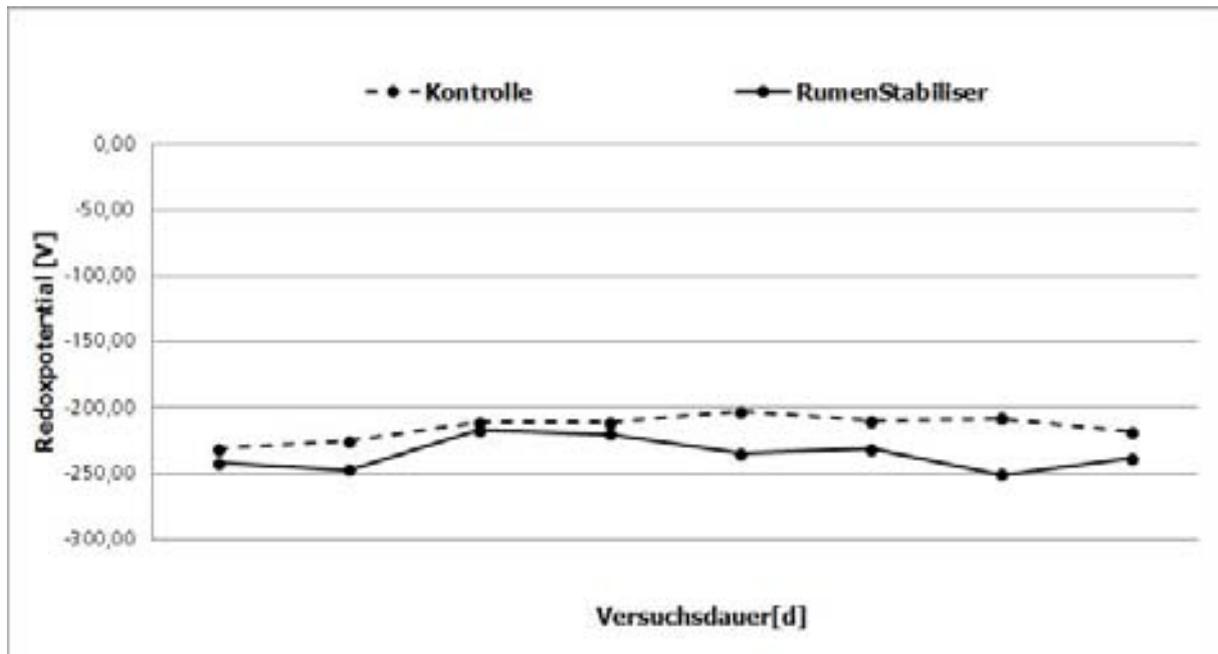


Abbildung 3: Redoxpotential im Rusitec

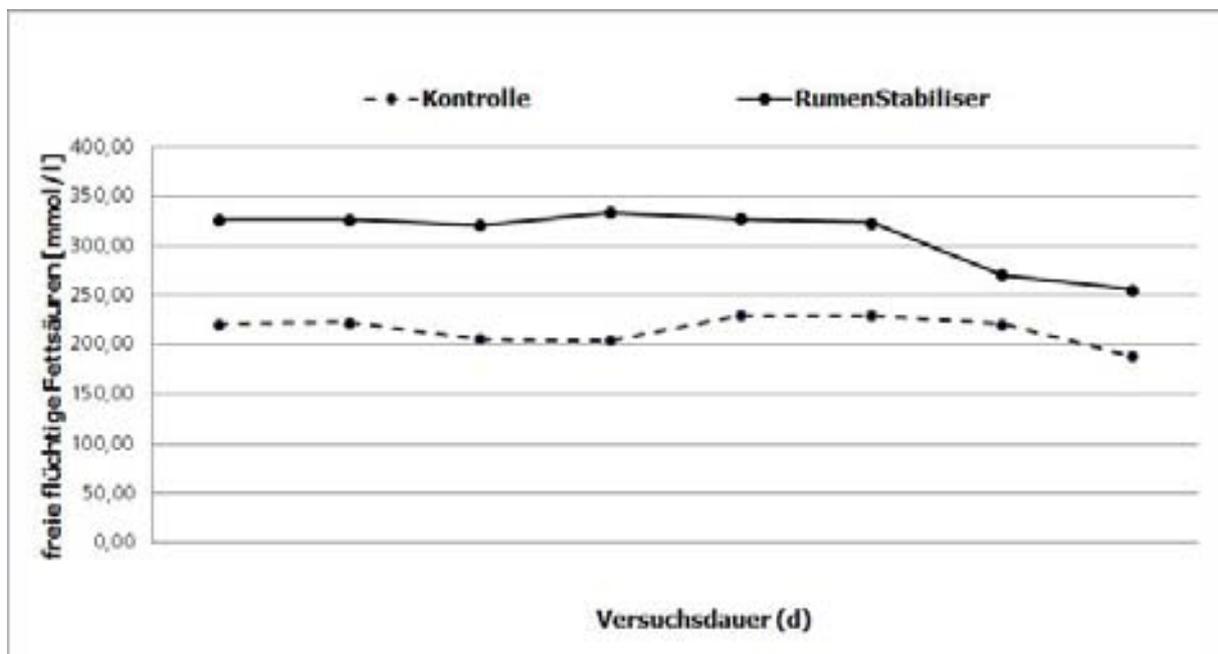


Abbildung 4: Flüchtige Fettsäuren im Rusitec

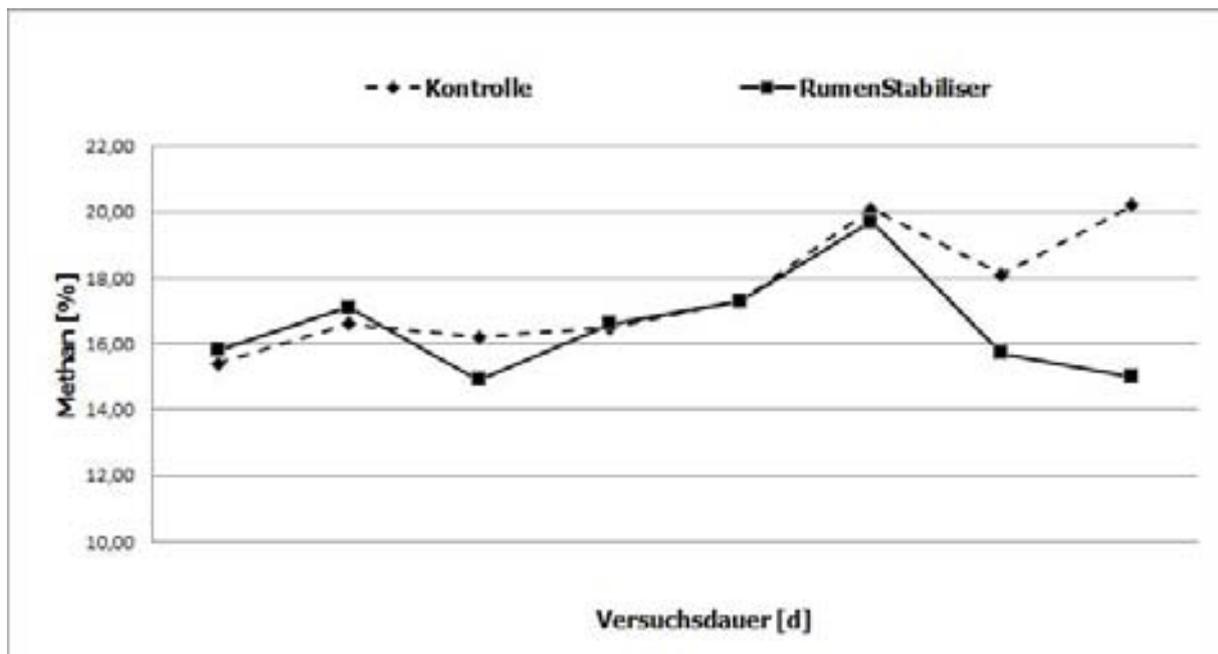


Abbildung 5: Methan im Rusitec

Diese beiden Säuren verbessern die Umsetzung von Laktat in flüchtige Fettsäuren. Laborversuche konnten diesen Ansatz bestätigen, da sich *in vitro* eine Verbesserung des Laktatabbaus durch *S. ruminantium* erreichen ließ. Eine Kombination beider Säuren mit klassischen Puffern verspricht einen noch positiveren Effekt auf den Pansen pH und einen technisch einfach zu verarbeitenden Zusatzstoff. Erste Versuche mit einer kommerziellen Säure/Puffermischung (Magnesiumfumarat, Äpfelsäure, Natriumacetat, Natriumbicarbonat (Rumenstabiliser Dr. Eckel GmbH) im Rusitec sind vielversprechend. Dort wirkte sich die Mischung positiv auf Redoxpotential (-10) (Abb. 3), flüchtige Fettsäuren (+44%) (Abb. 4) und sogar Methanproduktion (Abb. 5) (-6%) aus.

Die Fumarsäure erklärt die Methanreduktion, da diese im Wiederkäuer mehrfach in dieser Richtung experimentell eingesetzt wurde (Carro und Ranilla, 2003; Ungerfeld, 2007).

Ein Praxisversuch (60g/Tier/Tag) an 91 Bullen von 300kg bis Schlachtung hat gezeigt, dass das Produkt von den Tieren sehr gut angenommen wird. *In vivo* Messungen der pH-Werte und Methanbildung waren in diesem Versuch nicht möglich, aber es zeigte sich eine Tendenz zu einem besseren Ausschlaggewicht und die Tiere wurden subjektiv als ruhiger beschrieben.

Die kommerzielle Säure/Puffermischung stabilisiert nach diesen ersten Ergebnissen den ruminalen pH, erhöht die Produktion von flüchtigen Fettsäuren und reduziert die Methanproduktion im Wiederkäuer. Damit eignet sich das Produkt potentiell zur Kontrolle der Azidose bei hochleistenden Wiederkäuern.

Diskussion

Das Azidose-Risiko, welches sich aus den energiereichen Rationen für hochleistende Milchkühe ergibt, ist gut dokumentiert (Abb. 1). Verschieden Studien haben Zusatzstoffe getestet, welche den pH-Wert günstig beeinflussen können, im besonderen Fumarsäure und Äpfelsäure. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie waren nicht signifikant, aber es lag auch vor Versuchsbeginn kein azidotischer Zustand

vor. Weitere Versuche unter azidotischen Bedingungen und weitere in-vivo Versuche wären daher besonders interessant.

Versuche zur Methanreduktion im Wiederkäuer mit Fumarsäure kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Die in-vitro-Versuche mit der Puffer- und Säuren Mischung stellen jedoch einen weiteren interessanten Aspekt dieses Produktes dar. Auch hier wären weitere in-vivo Studien von Interesse.

Literatur

Carro, M. D. and M. J. Ranilla: Influence of different concentrations of disodium fumarate on methane production and fermentation of concentrate feeds by rumen micro-organisms in vitro. *British Journal of Nutrition*, 90, 617-623. 2003

Martin, S. A.: Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: a review, *J. Anim Sci*, 76, 3123 – 3132. 1998

Mao, S.Y., G. Zhang and W. Y. Zhu: Effect of disodium fumarate on in vitro rumen fermentation of different substrates and rumen bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 20, No 4: 543 – 549, 2007

Nagaraja, T. G. and E. C. Titgemeyer: Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *J. Dairy Sci.* 90 (E. Suppl.): E17-E38, 2007

Stone, W. C.: "The effects of Subclinical Rumen Acidosis on milk components." *Proc. Cornell Nutrition Conf. Feed Manuf. Cornell Uni. Ithaca NY*- pp. 40-46; 1999

Ungerfeld, E. M., R.A. Kohn, R. J. Wallace and C. J. Newbold: A meta-analysis of fumarate effects on methane production in ruminal batch cultures. *J. Anim.Sci* 2007, 85: 2556 – 2563, 2007

Autorenanschrift

Dr. Susanne Kirwan
Dr. Eckel GmbH
Im Stiefelfeld 10
56651 Niederzissen, Deutschland
E-Mail s.kirwan@dr-eckel.de

Rechnet sich! Profitable!



Rumen^{Stabiliser} – damit können Sie rechnen!

Profitable Ergebnisse finden Sie auf unserem BOKU-Poster

Rechnen Sie mit einem ausgeglichenen pH-Wert: Die starke Mineralstoff-Kombination Rumen^{Stabiliser} hilft, Pansenazidose zu vermeiden. Durch eine geringere Methanbildung und erhöhte Genese flüchtiger Fettsäuren verbessern sich Futterenergie und -ausbeute. Der organische Magnesium-Komplex Anta^{®Plus} MgF 100 sorgt überdies für merklich geringeren Stress. Stabiler Erfolg mit Rumen^{Stabiliser}. Wir beraten Sie gern.

Rumen^{Stabiliser} – that's what you can count on!

Keep yourself posted on our scientific BOKU poster

High energy concentrations in the diet for ruminants may often lead to insufficient structure. Acidosis or sub acidosis can be the consequence. Rumen^{Stabiliser} provides buffering substances and modifies the rumen flora, thereby stabilising the pH.

The organic complex Anta^{®Plus} MgF 100 adds stress relieving properties.

Stable success thanks to Rumen^{Stabiliser}. We would like to advise you.



Besuchen Sie uns auf der EuroTier 2012
in Hannover vom 13. – 16. November

Meet us at EuroTier 2012
Hannover, Germany, 13 – 16 November



Dietary potassium diformate in sows during pre-farrowing till weaning – effects on piglet performance and survival

Christian Lückstädt¹, Peter Theobald¹, Kurt Wegleitner¹ and Leonhard Durst²

¹ ADDCON Europe GmbH, Bonn, Germany

² University of Applied Sciences Weihenstephan-Triesdorf, Weidenbach, Germany

Introduction

Agricultural production and the feed industry continue to suffer from losses caused by contamination with pathogenic bacteria and the associated consequences in livestock, such as reduced weight gain and increased mortality. Currently, only potassium diformate (FORMI; KDF) is approved by the European Union as acidifier-based zootechnical additive (performance enhancer) for piglets, fattening pigs and sows – thereby covering the whole pig production chain. Numerous trials have been carried out world-wide and a Holo-analysis of all trials confirms that potassium diformate improves on average feed intake in swine by 3.5%, weight gain by 8.7% and feed efficiency by 4.2% (Lückstädt and Mellor, 2010). The effects of potassium diformate (KDF) are often described as strong antimicrobial against several bacteria (Øverland et al., 2009), including total anaerobic and coliform bacteria (Øverland et al., 2000; Canibe et al., 2001; Knarreborg et al., 2002) and digestibility enhancing (Roth et al., 1998). Most of these data stem from the use of KDF in weaned piglets and growing-finishing pigs. However, more recently, also data on the use of KDF in sows are available. Øverland et al. (2009) describe the effect of KDF in the diet of reproducing sows, especially on performance of sows and litters. The authors concluded that adding KDF to diets for sows had a positive effect on sows' backfat thickness in gestation and on growth performance of piglets. A further study (Lückstädt, 2011) found that the inclusion of KDF in sow diets from pre-farrowing till weaning can furthermore improve feed intake and condition in sows (Table 1).

Table 1: Diet effects on feed intake, body weight loss and backfat reduction in sows (modified from Lückstädt, 2011)

	Control	0.8% KDF	P-level
Initial sow weight [kg]	200.2±17.5	204.2±18.0	0.25
Feed intake till farrowing [kg/pig/d]	2.33±0.14	2.36±0.11	0.41
Feed intake from farrowing [kg/pig/d]	4.64±0.47	5.08±0.30	0.096
Weight loss [kg]	18.7±9.9	13.6±9.1	0.050
Backfat loss [mm]	2.4±1.9	1.5±1.7	0.061

Most of the data available on the use of KDF in sows are from trials performed at universities and research institutes and have focused mainly on the effects on sows alone. The objective of the present study was to assess the subsequent effects of KDF, fed to sows, on piglets under practical conditions.

Materials and methods

The study was carried out over a period of 4 months with 149 sows (crossbred db Classic, db Naima, db Viktoria) during late gestation. The experiment was conducted on a commercial farm in Hessen, Germany. The sows were randomly allotted to 2 treatment groups. Group 1 served as a control in which sows were fed a complete diet, mainly based on barley, wheat, corn and soybean meal, without supplemented antimicrobial agents (Table 2). Sows in group 2 were fed the same diet containing 0.8% potassium diformate. The experimental feeding of sows started on day 108 of gestation and finished at weaning (19 days after farrowing). Feeding was done twice a day, while water was available ad libitum. After farrowing, the numbers of born piglets were registered. First weighing was carried out on day 4, while the second weighing was done at weaning. Furthermore all mortalities were recorded. Data on weight and number of piglets were recorded and analysed using the t-test.

Table 2: Composition and proximate analysis of commercial sow diet

Components	Percentage
Barley	26.0
Corn	23.0
Soybean meal	17.0
Wheat	11.0
Wheat bran	10.0
Sugar beet pulp	3.7
By-products from bakeries/sweets	2.8
Calcium carbonate	1.6
Linseed	1.0
Soybean, heated	1.0
Mono-calcium phosphate	0.52
Soybean oil	0.50
Sodium chloride	0.44
Wheat middlings	0.32
Proximate composition	
Metabolizable energy	12.9 MJ ME
Crude protein	16.6
Crude lipids	4.0
Crude fibre	4.8
Crude ash	5.9
Lysine	0.92

Results and discussion

Feeding KDF to sows did have significant effects on the new-born piglets (Table 3). In contrary to other observations, the additive had this time no effect on the weaning weight, but the number of weaned piglets tended ($P=0.096$) to be increased; while on the other hand the losses during the weaning period were significantly ($P=0.033$) reduced. Furthermore, the mean weight gain of the weaned litter from KDF-fed sows was numerically increased by 2.42 kg or 6.4%, however this result failed to be significant due to the high standard deviation ($P=0.14$). Despite the higher weaning weight of the litter, the reduction of the backfat thickness in KDF-fed sows was only 0.30 mm, while the sows in the control group had a backfat reduction of 0.55 mm; thus the reduction of backfat thickness in the KDF-group was numerically reduced by more than 45% - but again, due to the high standard deviation this observed effect was not significant.

Table 3: Performance parameter of piglet from sows fed with or without KDF

Parameter	Control	0.8% KDF in sows	P-value
Sows [n]	76	73	-
Piglets born alive, per sow [n]	13.3±2.6	13.0±2.2	0.443
Piglets weaned, per sow [n]	9.9±1.8	10.4±1.7	0.096
Losses during weaning [n]	0.4±0.8	0.2±0.5	0.055
Losses during weaning [%]	3.7±7.7	1.5±3.9	0.033
Litter weight at weaning [kg]	58.12±14.57	61.32±12.98	0.160
Litter weight gain till weaning [kg]	37.61±10.98	40.03±8.80	0.141
Backfat reduction in sows during weaning [mm]	-0.3±2.0	-0.6±2.8	0.538

These results show that the inclusion of potassium diformate (FORMI) into the diet of sows from late gestation till the end of the weaning period can improve performance and survival rates in piglets. Similar observations have been made by Øverland et al. (2009) and Lückstädt (2011). Øverland et al. (2009) for instance found that piglets born to sows receiving KDF tended to have increased individual ($P=0.05$) and litter ($P=0.08$) birth weight, while they had a significantly higher weaning weight ($P<0.05$). The above mentioned data, especially on the reduced mortality, are also in line with unpublished data from the Nong Lam University in Vietnam (2010), which found reduced mortalities (Control: 7.2%; KDF: 3.7%) in piglets from sows fed with KDF. It is suggested therefore that the 0.8% inclusion of KDF will confer beneficial effects onto piglets and sows under a wide range of practical husbandry conditions.

References

- Canibe, N., Jensen, B.B., Steien, S.H., Øverland, M. 2001. Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, and on gastric alterations. *J. Anim. Sci.* 79, 2123-2133
- Knarreborg, A., Miquel, N., Granli, T., Jensen, B.B. 2002. Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 99, 131-140
- Lückstädt, C. 2011. Effects of dietary potassium diformate on feed intake, weight loss and backfat reduction in sows: pre-farrowing till weaning. *Proc. BSAS*, Vol. 2(1), 145
- Lückstädt, C., Mellor, S. 2010. Holoanalysis – the acid test in pig diets. *Feed Magazine / Kraftfutter.* 1/2, 18-21
- Øverland, M., Granli, T., Kjos, N.P., Fjetland, O., Stokstad, M., Steien, S.H. 2000. Effect of dietary formates on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora and stomach alterations in growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 78, 1875-1884
- Øverland, M., Bikker, P., Fledderus, J. 2009. Potassium diformate in the diet of reproducing sows: Effect on performance of sows and litters. *Livest. Sci.* 122, 241-247
- Roth, F.X., Windisch, W., Kirchgessner, M. 1998. Effect of potassium diformate (Formi LHS) on nitrogen metabolism and nutrient digestibility in piglets at graded dietary lysine supply. *Agribiol. Res.* 51, 167-175

Corresponding author

Dr. Christian Lückstädt
 ADDCON Europe GmbH
 Kaiserstrasse 1a
 D-53113 Bonn
 E-mail: christian.lueckstaedt@addcon.com

FORMI

Patentierter Wachstumsförderer

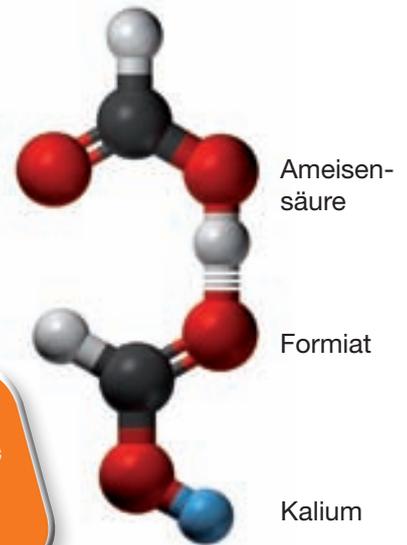
Optimale Effizienz, maximales Wachstum und höchstmögliche Sicherheit sind entscheidende Voraussetzungen für die Schweineproduktion weltweit.

FORMI, das auf der patentierten Kaliumdiformiat-Technologie von ADDCON basiert, steigert das Wachstum von Ferkeln und Mastschweinen sowie die Leistungsfähigkeit von Sauen. Die Vorteile von FORMI sprechen für sich:

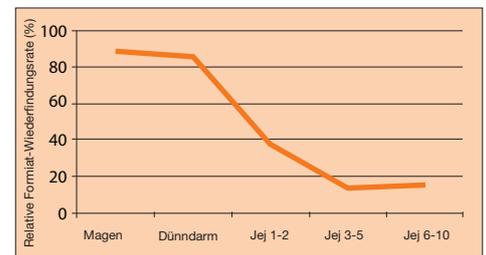
- Starke antimikrobielle Wirkung
- Exzellente Futtermittelverwertung
- Gesteigerte Leistung

neueste Ergebnisse bei Sauen + Mastschweine siehe Tagungsband: Dr. Lückstädt

Registriert & patentiert



Versuch 1: FORMI erreicht den Dünndarm



(Mroz et al., 2000)

Dickdarm

- Förderung der natürlichen Darmflora
- Reduzierung von Coli-Keimen und Salmonellen

Dünndarm

- Senkung des pH-Wertes um 0,3 - 0,5
- Reduzierung von Coli-Keimen und Salmonellen
- erhöhte Sekretion von Verdauungssäften
- verbesserte Nährstoffverdaulichkeit

Kot / Harn

- Förderung und Stabilisierung der natürlichen Mikroflora
- Geringeres Durchfallrisiko
- Reduzierung der Stickstoff- und Phosphorausscheidung

Magen

- gesenkter pH-Wert
- Reduzierung von Coli-Keimen und Salmonellen
- Förderung der natürlichen Mikroflora
- Aktivierung von Verdauungsenzymen

Futter

- antimikrobieller Effekt
- erhöhte Futteraufnahme

ADDCON GROUP GmbH

Kaiserstraße 1a • 53113 Bonn • Deutschland

Tel./Phone: +49-228-91910-0; Fax: +49-228-91910-60

E-Mail: info@addcon.com

Wirksamkeit einer neuartigen *E. coli* Phytase auf Phosphorfreisetzung und Stickstoffretention in Masthühnern

Petra Philipps¹, Mike Bedford¹, Tiago Dos Santos¹, Rob A.H.M. Ten Doeschate¹ und Benjamin Schröder²

¹ AB Vista, Marlborough

² Pulte GmbH & Co. KG, Rimsting

Einleitung

Im Zuge einer nachhaltigen Verwertung der weltweit verbleibenden Phosphatreserven hat sich der Einsatz von Phytasen in der Ernährung monogastrischer Nutztiere etabliert. Mikrobielle Phytasen bauen Inositolhexaphosphat in pflanzlichen Futtermitteln für Monogastrier unter Freisetzung von P ab. Dadurch können Futtermittel mit deutlich reduzierten Gehalten an mineralischem Phosphor formuliert werden. Phytat kann auch weitere Mineralien binden, insbesondere Calcium, sowie auch Nährstoffe, wie z.B. Stärke oder Protein (Luttrell 1993, Cowieson et al. 2009). Eine neuartige *E. coli* Phytase (EC 3.1.3.26) wurde in Versuchen mit Masthühnern getestet.

Material und Methoden

Versuch 1

In einem Broilerversuch (10x17 männliche Cobb 500 Küken pro Behandlung, Tag 0-24, zweiphasige Fütterung Tag 0-14 und 15-24) wurden 4 Kontrollfutter formuliert mit 0,20; 0,27, 0,34; 0,41 % verfügbarem P (Tabelle 1). Dem Futter mit dem niedrigsten P-Gehalt (2 g verfügbarer P/kg) wurde eine neuartige *E. coli* 6-Phytase, Quantum[®] (XT), mit 500 U/kg zugelegt (sowie in weiteren Behandlungen auch 4 weitere Phytaseprodukte sowohl von bakterieller als auch fungaler Herkunft, die an dieser Stelle nicht rapportiert werden). Gewicht, Zuwachs und Futtermittelverwertung wurden am Ende der jeweiligen Versuchsabschnitte ermittelt. Am Tag 24 wurden von 4 Tieren pro Wiederholung die Gehalte an Tibiaasche ermittelt um die Phosphorfreisetzung für die Phytase-Behandlung im Vergleich zu den Kontrollfuttern zu berechnen.

Versuch 2

In einem weiteren Bodenhaltungsversuch mit Broilern (8x15 weibliche ROSS 308 Küken pro Behandlung, Tag 0-28, zweiphasige Fütterung Tag 0-21 (23,1% Rohprotein) und 22-28 (22,1 % Rohprotein) wurden einem Basisfutter mit niedrigem P-Gehalt (Tabelle 3) 250, 500 und 2500 U Quantum[®] Phytase/kg Futter zugelegt. Rohprotein- und Aminosäuregehalte wurden zwischen den Behandlungen konstant gehalten. Die Wachstumsleistungen (Gewicht, Futteraufnahme und Futtermittelverwertung) wurden zu den jeweiligen Versuchsabschnitten erfasst. Am Tag 21, wurden 2 Tiere pro Wiederholung paarweise in Stoffwechsel-Käfige umgestallt. Für die beiden letzten Versuchstage wurden dort Excreta zur Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeiten gesammelt und die Futteraufnahme gemessen.

Ergebnisse

Versuch 1 (Tabelle 2)

Für das Gewicht (Tag 24) und die Tibiaasche (Tag 24) wurde mit Zulage von verfügbarem P ein signifikanter Anstieg ($p < 0.05$) beobachtet. Ausgehend von einem Gewicht von 790 g pro Tier in der Behandlung mit 0,20 % verfügbarem P lag die Behandlung mit der Phytase mit 1005 g signifikant höher und auf gleichem Niveau wie die Behandlungen mit den beiden höchsten Gehalten an verfügbarem P (1025 und 1027 g pro Tier für 0,34 und 0,41 % verfügbarem P). Der Gehalt an Tibiaasche betrug für die Tiere der Behandlung mit der Phytase 33,9%. Für die Behandlung mit 0.20% verfügbarem P wurde ein signifikant niedrigerer Wert von 28,6% ermittelt. Bei der Zulage von 500 U/kg der bakteriellen 6-Phytase wurde im vorliegenden Versuch eine Phosphorfreisetzung von 1,37 g/kg errechnet.

Versuch 2 (Tabelle 4)

Die Phytasezulage resultierte in einem signifikanten ($p < 0,05$) Anstieg des Gewichtes der Tiere am Tag 28 um bis zu 222 g/Tier in der Behandlung mit 2500 U Phytase/kg im Vergleich zur Kontrolle. Bereits die niedrigste Zulagestufe mit der Phytase (250 U/kg) lag etwa 100 g/Tier höher als die Kontrollbehandlung. Die tägliche Futtermittelaufnahme war in beiden Versuchsabschnitten für die Behandlungen mit Phytase gegenüber der Kontrolle signifikant verbessert, ebenso wie der tägliche Zuwachs. Mit Zulage von 250, 500 und 2500 U Phytase/kg wurden tägliche Zunahmen von 39,6/41,1 und 44,0 g pro Tag erreicht, wohingegen die Tiere der Kontrollgruppe einen täglichen Zuwachs von 36,0 g/Tag erzielten. Für die Futtermittelverwertung wurden im vorliegenden Versuch keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Die N-Retention (g/Tag) lag in der Kontrollgruppe bei 0,87 g/d und stieg mit gestaffelter Zulage von 250, 500 und 2500 U Phytase/kg auf 0,98; 1,01 und 1,05 g/Tag ($p < 0.05$). Dies entspricht einer Erhöhung um 13, 16 und 21 % für die jeweiligen Zulagestufen mit der Phytase.

Tabelle 1: Futterzusammensetzung der Basisfutter im Versuch 1

Inhaltsstoff (%)	Starter (0-14 Tage)				Grower (15-24 Tage)			
	0,41	0,34	0,27	0,20	0,41	0,34	0,27	0,20
Mais	58,1	58,4	58,6	58,9	59,7	60,1	60,5	60,0
Sojaextraktionsschrot	37,3	37,3	37,4	37,4	31,9	31,9	31,8	32,9
Fleischknochenmehl	-	-	-	-	2,5	2,5	2,5	1,6
Sojaöl	1,0	0,9	0,8	0,7	1,0	0,9	0,8	0,9
Futterkalk	0,9	1,0	1,2	1,3	0,6	0,7	0,8	1,1
DCP	1,4	1,1	0,7	0,4	0,9	0,6	0,3	0,1
Rest	1,3	1,3	1,3	1,3	3,4	3,3	3,3	3,4
Nährstoffe								
ME, MJ/kg	12,7	12,7	12,7	12,7	12,8	12,8	12,8	12,8
Rohprotein, %	22,3	22,3	22,3	22,4	21,5	21,5	21,5	21,5
Lysin, %	1,36	1,36	1,36	1,36	1,31	1,31	1,31	1,31
Calcium, %	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Phosphor, %	0,70	0,63	0,56	0,48	0,69	0,62	0,55	0,48
Verfügbare P, %	0,41	0,34	0,27	0,20	0,41	0,34	0,27	0,20
Natrium, %	0,18	0,18	0,18	0,18	0,17	0,17	0,17	0,17

Tabelle 2: Ergebnisse Versuch 1

Behandlung	Gewicht Tag 14, g	Futter- verwertung Tag 14, g/g	Gewicht Tag 24, g	Futter- verwertung Tag 24, g/g	Tibia -asche %	P- Freiset- zung g/kg
Verf. P 0.41%	360 ^a	1,352 ^{ab}	1027 ^a	1,393 ^a	35,2 ^a	---
Verf. P 0.34%	361 ^a	1,333 ^b	1025 ^a	1,387 ^{ab}	34,2 ^{ab}	---
Verf. P 0.27%	336 ^b	1,349 ^{ab}	969 ^b	1,372 ^b	32,5 ^b	---
Verf. P 0.20%	303 ^c	1,386 ^a	790 ^c	1,407 ^a	28,6 ^c	---
Quantum [®] (500 U/kg)	354 ^a	1,316 ^b	1005 ^{ab}	1,367 ^b	33,9 ^{ab}	1,37

^{abcd}P<0.05

Tabelle 3: Futterzusammensetzung der Basisfutter im Versuch 2

Inhaltsstoffe (%)	Starter (Tag 0-21)	Grower (Tag 21-28)
Mais	60.0	60.3
Sojaextraktionsschrot	30.0	30.0
Maiskleberfutter	4.0	2.50
Pflanzliches Öl	2.0	3.50
Futterkalk	1.72	1.70
DCP	0.70	0.49
Lysin HCL	0.30	0.30
Methionin	0.42	0.37
Mineralstoffe und Vitamine	auf100%	auf 100%
Nährstoffe	12,8	13,2
ME (MJkg)	23,1	22,1
Crude protein (%)	1,31	1,31
Lysine (%)	0,97	0,93
Methionine + Cystine (%)	0,86	0,81
Ca (%)	0,52	0,48
Total Phosphorus (%)	0,28	0,23
Non-phytate Phosphorus (%)		

Tabelle 4: Ergebnisse Versuch 2

Parameter	Kontrolle	250 U/kg QUANTUM [®]	500 U/kg QUANTUM [®]	2500 U/kg QUANTUM [®]
Lebendgewicht (28. Lebenstag) (g)	1050 ^c	1148 ^b	1190 ^b	1272 ^a
Futteraufnahme (Tag 0-21) (g/Tag)	54,0 ^c	58,3 ^b	61,8 ^{ab}	63,4 ^a
Futteraufnahme (Tag 21-28) (g/Tag)	96.0 ^d	108.2 ^c	112.2 ^b	116.2 ^a
Zuwachs (Tag 0-28) (g/Tag)	36.0 ^c	39.6 ^b	41.1 ^b	44.0 ^a
Futterverwertung (Tag 0-28) (g/g)	1.720	1.726	1.751	1.686
TM-Verdaulichkeit (%)	74.5	72.2	74.4	74.6
Stickstoff Retention (g/Tag)	0.87 ^b	0.98 ^a	1.01 ^a	1.05 ^a

^{abcd}P<0.05

Diskussion

Die Ergebnisse dieser vorliegenden Arbeiten zeigen, dass sich mit der vorliegenden weiterentwickelten Phytase der 2. Generation unter Beibehaltung eines hohen Leistungsniveaus effektiv Phosphor und Stickstoff im Futter einsparen lassen. Die Zulage von 500 U der Phytase/kg resultierte in signifikant verbesserten Leistungsdaten der Masthühner im Vergleich zum phosphorreduzierten Basisfutter. Beim Vergleich mit verschiedenen Zulagestufen an mineralischem Phosphor (positive Kontrollen) lag die Phosphorfreisetzung in Versuch 1 bei 1,37 g P pro kg Futter und ermöglicht somit eine weitere Absenkung des Gehaltes an mineralischem Phosphor im Futter für Masthühner. In Versuch 2 wurden weiterhin signifikante Effekte abgestufter Zulagen mit der Phytase auf die N-Retention beim Broiler ermittelt (+16% für die empfohlene Dosierung von 500 U/kg).

Schlussfolgerungen

Somit erweist sich diese Weiterentwicklung im Bereich der Phytasen als hocheffizient und als geeigneter Zusatzstoff, um die Gehalte an mineralischem P und Stickstoff in Futterrationen für Masthühner weiter abzusenken. Dies leistet einen Beitrag zur nachhaltigen Verwertung bestehender mineralischer Phosphat-Ressourcen und zur Entlastung der Umwelt bei Ausbringung von Geflügelkot auf knappe landwirtschaftliche Nutzflächen. Weiterer Aspekt ist die Absenkung der Futterkosten in Bezug auf reduzierte Gehalte an mineralischen Phosphor und Protein/Aminosäuren.

Literatur

Luttrell B.M. (1993): The biological relevance of the binding of calcium ions by inositol phosphates. *The Journal of Biological Chemistry* 268: 1521-1524

Cowieson A.J., Bedford M.R., Selle, P.H. and Ravindran V. (2009): Phytate and microbial phytase; implications for endogenous losses and nutrient availability. *World Poultry Science Journal*, 65, 401-418

Autorenanschrift

Dr. Petra Philipps
AB Vista
3 Woodstock Court, Blenheim Road, Marlborough Business Park
Marlborough, Wiltshire, SN8 4AN, UK
E-Mail: Petra.philipps@abagri.com

Efficacy of phytase in growing turkeys

Krzysztof Kozłowski¹, Jan Jankowski¹, Heinz Jeroch¹ and Monita Vereecken²

¹ Warmia und Mazury Universität in Olsztyn, Polen

² HUVEPHARMA NV, Antwerpen, Belgien

Introduction

Numerous experiments have been conducted since the publication of the first positive results of studies investigating microbial phytases as supplements to feed mixtures for poultry (Nelson et al 1968). Reviews of research data on the effects of microbial phytases have also been published (Jeroch 1994, Selle and Ravindran 2007, Singh 2008). However, relatively few experiments with microbial phytases have been performed on turkeys. Turkey meat production has increased significantly over the last two decades in different countries, both in Europe and on the other continents. The aim of the present study was to investigate the effect of different dosages of an *Escherichia coli* derived phytase (Optiphos, Huvepharma NV) on performance, tibia mineralization and apparent ileal digestibility of nutrients in turkeys.

Materials and methods

A total of 600 male BUT Big 6 turkeys were randomly allocated to 60 pens, 10 birds in each. Each of six treatment groups consisted of 10 pens (replicates), 100 birds in each treatment, at a stocking density of 2.5 birds per m². The turkeys were reared until 112 days (16 weeks) of age, and they were fed diets based on corn, soybean meal and wheat. Group I (positive control - PC) received a diet with a standard phosphorus (P) and calcium (Ca) content at all feeding stages (Table 1), and group II (negative control - NC) was fed a diet with a lower P and Ca content (Table 2). Groups III – VI received the same diet as group II, but with graded levels of *Escherichia coli* phytase, i.e. 125, 250, 500 and 1000 FTU/kg, respectively. Feed mixtures were in crumble/pelleted form. Feed and water were offered *ad libitum*. Phytase activity in all experimental diets was analyzed according to the assay outlined in Han et al (1999).

The performance parameters of turkeys (body weight, weight gain, feed intake and feed conversion), tibia mineralization parameters (ash, Ca, P, specific gravity, breaking strength) and the apparent ileal digestibility of dry matter (DM), P and Ca were determined in the study. At the end of the experiment, a slaughter analysis (8 birds per treatment, 48 birds in total, carcass yield and proportions of muscles) was performed.

During the last feeding period, birds from all groups received feed with a marker (Celite, inclusion level - 2%). On day 112, eight birds from each group (48 birds in total) were killed, their small intestines immediately exposed and the contents of the lower ileum expressed. Digesta samples were frozen and lyophilized and the digestibility of dry matter, Ca and P was determined. Ileal nutrient digestibility was calculated by the following formula:

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

where: AIA_{feed} and AIA_{digesta} = acid-insoluble ash content of feed and digesta, respectively,

NT_{feed} and NT_{digesta} = nutrient content of feed and digesta, respectively.

The experimental results were verified statistically by ANOVA and the significance of differences was estimated by Duncan's test (Statistica 9.0 software package, StatSoft Inc. 2009).

Table 1: Composition and nutritive value of the PC diets (group I)

Components (%)	Feeding phase (weeks)			
	I (0-4)	II (5-8)	III (9-12)	IV (13-16)
Wheat	15.00	15.00	15.00	15.00
Corn	30.12	35.36	39.41	46.35
Soybean meal	43.34	40.19	37.63	28.23
Potato protein	5.00	3.00	-	-
Soybean oil	1.44	1.10	2.00	-
Animal fat	-	1.10	2.13	5.01
NaHCO ₃	0.15	0.10	0.10	0.10
Salt	0.21	0.22	0.20	0.15
Limestone	1.68	1.38	1.23	1.12
MCP	2.00	1.55	1.23	1.05
DL-Methionine	0.31	0.34	0.34	0.33
L-Lysine HCl	0.32	0.29	0.29	0.30
L-Threonine	0.07	0.05	0.13	0.08
Premix (vitamins + trace minerals)	0.25	0.25	0.25	0.22
Choline chloride	0.11	0.08	0.07	0.06
Celite	-	-	-	2.00
<i>Energy and nutrient content</i>				
AME _N (MJ/kg)	11.61 ¹	12.01 ¹	12.62 ¹	13.22 ¹
Crude protein (g/kg)	280 ¹ /284 ²	255 ¹ /257 ²	225 ¹ /231 ²	190 ¹ /202 ²
Methionine (g/kg)	7.4 ¹	7.2 ¹	6.6 ¹	6.1 ¹
Methionine + Cystin (g/kg)	11.8 ¹	11.3 ¹	10.4 ¹	9.4 ¹
Lysine (g/kg)	18.2 ¹	16.1 ¹	13.9 ¹	11.7 ¹
Calcium (g/kg)	12.0 ¹ /12.8 ²	10.0 ¹ /10.0 ²	8.5 ¹ /8.4 ²	7.5 ¹ /7.8 ²
Total phosphorus (g/kg)	8.8 ¹ /8.7 ²	7.7 ¹ /7.4 ²	7.0 ¹ /6.8 ²	6.0 ¹ /5.9 ²
Available (Av) phosphorus (g/kg)	6.0 ¹	5.0 ¹	4.3 ¹	3.8 ¹

¹ Calculated; ² Analyzed (Naumann and Bossler, 1993)

Results and discussion

The birds of all experimental groups were characterized by good livability. The supplementation of *E. coli* phytase (500-1000 FTU/kg diet) provided the best effects, with performance results very close to those noted in the PC group (Table 3). All phytase-supplemented groups were characterized by better, but only numerically, tibia bone mineralization compared with the NC group. Graded levels of phytase had variable effects on ileal DM digestibility. A curvilinear dose-response was observed for P digestibility, with significant effects of phytase at a minimum dose of 250 FTU/kg. Ca digestibility was also improved by phytase, and the noted increase was significant in all groups. The addition of 125-1000 FTU phytase to experimental diets increased the amount of ileal digested phosphorus by 0.25-0.72 g/kg feed.

The levels of aP in the PC group were any lower than the recommendations of Smulikowska and Rutkowski (2005) as well as Leeson and Summers (2005). The latter authors recommend 7.5 g aP/kg feed for the period of 0-4 weeks of age and 4.8 g aP/kg feed from the 17th week. According to Smulikowska and Rutkowski (2005), the corresponding values are 7.0-7.2 g aP/kg and 4.9-5.4 g aP/kg, respectively. Although the aP content of diets for the NC group was significantly lower than in the PC

group, the growth performance of birds did not decrease as much as it could be expected. It can be concluded that a review of aP recommendations is urgently needed. As reported previously (GfE 2004, Rodehutsord et al 2003), there is a considerable potential for P sparing in turkeys.

Table 2: Composition and nutritive value of NC diets (group II) and phytase-supplemented diets (groups III-VI)

Components (%)	Feeding phase (weeks)			
	I (0-4)	II (5-8)	III (9-12)	IV (13-16)
Wheat	15.00	15.00	15.00	15.00
Corn	31.84	36.86	41.64	48.43
Soybean meal	43.03	39.82	37.20	27.83
Potato protein	5.00	3.00	-	-
Soybean oil	0.93	1.00	2.00	-
Animal fat	-	1.00	1.38	4.31
NaHCO ₃	0.15	0.10	0.10	0.10
Salt	0.21	0.22	0.20	0.15
Limestone	1.70	1.37	1.18	1.01
MCP	1.09	0.63	0.23	0.18
DL-Methionine	0.31	0.33	0.34	0.32
L-Lysine HCl	0.33	0.29	0.29	0.30
L-Threonine	0.07	0.06	0.13	0.08
Premix (vitamins + trace minerals)	0.25	0.25	0.25	0.22
Choline chloride	0.11	0.08	0.07	0.06
Celite	-	-	-	2.00
<i>Energy and nutrient contents</i>				
AME _N (MJ/kg)	11.62 ¹	12.11 ¹	12.62 ¹	13.22 ¹
Crude protein (g/kg)	280 ¹ /283 ²	255 ¹ /263 ²	225 ¹ /238 ²	190 ¹ /207 ²
Methionine (g/kg)	7.4 ¹	7.2 ¹	6.6 ¹	6.1 ¹
Met + Cys (g/kg)	11.8 ¹	11.3 ¹	10.4 ¹	9.4 ¹
Lysine (g/kg)	18.2 ¹	16.1 ¹	13.9 ¹	11.7 ¹
Calcium (g/kg)	10.1 ¹ /10.5 ²	8.0 ¹ /7.9 ²	6.5 ¹ /6.3 ²	5.5 ¹ /5.4 ²
Total phosphorus (g/kg)	6.8 ¹ /7.0 ²	5.7 ¹ /5.8 ²	4.8 ¹ /4.9 ²	4.1 ¹ /4.1 ²
Available (Av) phosphorus (g/kg)	4.0 ¹	3.0 ¹	2.1 ¹	1.9 ¹

¹ Calculated; ² Analyzed (Naumann and Bassler, 1993)

Table 3: Effect of dietary phytase on the Big 6 turkeys

Specification	Groups				
	I (PC)	II (NC)	III (NC+125 FTU)	IV (NC+250 FTU)	V (NC+500 FTU)
BW - 112 d, kg	14.42 ^a	13.55 ^c	13.95 ^b	13.94 ^b	14.21 ^{ab}
FCR - 1-112 d, kg/kg	2.61 ^{abc}	2.68 ^c	2.66 ^{bc}	2.62 ^{abc}	2.58 ^{ab}
P in tibia ash, %	17.4 ^a	16.6 ^b	17.0 ^{ab}	17.1 ^{ab}	17.0 ^{ab}
Il. dig. DM, %	79.0 ^a	71.7 ^c	75.5 ^b	73.9 ^{bc}	72.9 ^{cd}
Il. dig. P, %	61.1 ^a	44.2 ^c	50.3 ^{bc}	56.0 ^{ab}	52.1 ^{bc}
Il. dig. Ca, %	44.8 ^a	31.2 ^c	37.3 ^b	40.0 ^{ab}	41.1 ^{ab}

Mean values within a row with the different letters (abc) differ significantly ($P \leq 0.05$)

Conclusion

It could be concluded, that the supplementation of *E. coli* phytase (500-1000 FTU/kg diet) provided the best effects. By the addition of phytase (125 - 1000 FTU/kg feed) the amount of aP in experimental diets can be reduced about 0.25 - 0.72 g/kg feed.

Literatur

- Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE). (2004): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Mastputen. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology, 199-233
- Han Y., Wilson D.B., Lei X.G. (1999): Expression of an *Aspergillus niger* phytase gene (phyA) in *Saccharomyces cerevisiae*. Appl. Environ. Microbiol. 65, 1915-1918
- Jeroch H. (1994): The present knowledge about phytase application in poultry feeding. Arch. Geflügelk. 58, 1-7
- Naumann C., Bassler R. (1993): Methodenbuch Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag Darmstadt
- Nelson T.S., Shieh T.R., Wodzinski R.J., Ware J.H. (1968): The availability of phytate phosphorus in soybean meal before and after treatment with mold phytase. Poult. Sci. 47, 1842-1848
- Rodehutsord M., Wendt P., Strobel E. (2003): Reducing the phosphorus concentration in diets for turkeys between 10 and 22 weeks of age. Brit. Poult. Sci. 44, 591-597
- Selle P.H., Ravindran V. (2007): Microbial phytase in poultry nutrition. Anim. Feed Sci. Technol. 135, 1-41
- Singh P.K. (2008): Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. World's Poult. Sci. J. 64, 553-580
- Smulikowska S., Rutkowski A. (2005): Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz. Normy żywienia drobiu. 4th ed. Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, Jabłonna. (in polish)
- StatSoft Inc. (2009): Statistica (data analysis software system), version 9.0. www.statsoft.com

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

Differences in thermostability of four different phytase products

Cornelia Schauerhuber, Sabine Henikl and Gerd Schatzmayr

BIOMIN Research Center, Tulln, Austria

Introduction

Phosphorus is an essential nutrient for animals and is found in plants at sufficient amounts to maintain health, body function and performance. However, the major storage form of phosphorus in plants is the indigestible, organic form of phytic acid (myo-inositol hexakisphosphate) whose salt form is called phytate (figure 1). The six phosphate groups of the inositol ring bind various cations such as calcium, iron, magnesium and zinc. These fixed complexes interfere with their availability for the animal.

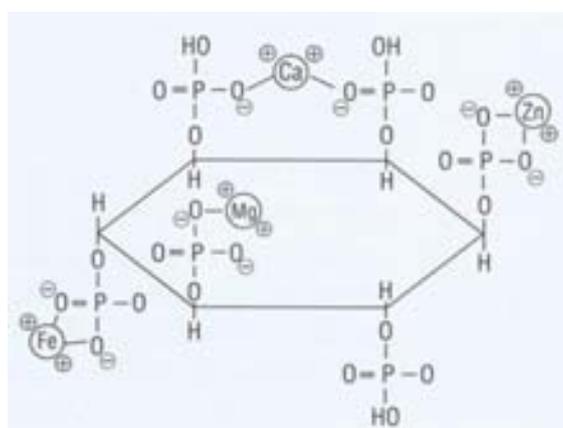


Figure 1: Molecular structure of phytate comprising formed mineral complexes (AWT, 2004)

Phytase is a type of phosphatase enzyme that breaks down the phytic acid molecule in the digestive tract and provides the phosphorus for the animals' metabolism. According to that, many different phytase products are available as feed additives.

To determine the enzyme activity of phytase products, methods were developed and validated for each product depending on temperature and pH optimum, matrix and production organism. To harmonize the different methods, the international standard ISO 30024:2009 entitled *Animal Feeding Stuffs - Determination of Phytase Activity* was published in 2009 based on an interlaboratory study conducted of 14 different laboratories (Gizzi *et al.*, 2008).

Besides the activity of a commercial phytase product, the thermostability is a crucial property which facilitates its use in animal feed. In contrast to post pelleting enzyme spraying, eased application of phytase prior pelleting is possible. To increase thermostability of phytase products, two different approaches are being followed by industry. One possibility is to apply a special coating on the phytase product to assure thermal protection (Partridge, 2007). Another is to engineer phytases with intrinsic thermostability by systemic mutagenesis and expression of the enzyme in yeast (Greiner and Konietzny, 2006).

Materials and methods

In this study, samples of three different commercial phytase products (TV, TR, TQ) that claim thermostability were examined and compared to a non-thermostable phytase (NT) product (table 1).

Table 1: Overview of tested phytase samples

	Sample	Stated activity
NT	6-phytase	5,000 U/g
TV	6-phytase	5,000 U/g
TR	6-phytase	5,000 U/g
TQ	6-phytase	2,500 U/g

The enzyme product was diluted 1:100 in (1) acetate buffer (table 2) and dissolved by stirring for 30 min at room temperature. Afterwards, the enzyme solution was centrifuged at $4500 \times g$ for 10 min. 5 ml of the supernatant was transferred to a centrifuge tube and then heated at 75 °C for 5 min using a waterbath. After heating, the enzyme solution rested at room temperature for 10 min.

Table 2: Overview of used reagents

Reagent	Concentration
(1) Acetate buffer	0.25 mol/l sodium acetate trihydrate in RO water with 0.01% polysorbate 20, pH 5.50
(2) Acetate buffer	0.25 mol/l sodium acetate trihydrate in RO water, pH 5.50
(3) Phytate substrate	7.5 mmol/l dodecasium phytate in (2) acetate buffer, pH 5.50
(4) Nitric acid	21% nitric acid in RO water
(5) Heptamolybdate	80.9 mmol/l ammonium heptamolybdate tetrahydrate in RO water with 1% ammonia solution (25% w/w)
(6) Monovanadate	20.0 mmol/l ammonium monovanadate in RO water with 2% (4) nitric acid
(7) STOP reagent	1 volume (5) heptamolybdate + 1 volume (6) monovanadate + 2 volumes (4) nitric acid

The phytase activity was determined by using the ISO 30024:2009. In this method, phytase releases inorganic phosphate from the substrate phytate under defined conditions which is determined by forming a yellow complex with an acidic molybdate/vanadate reagent. The absorbance of the yellow complex is measured at 415 nm and the released phosphate is quantified from a phosphate standard calibration curve.

For the determination of phytase activity, the enzyme solution was diluted to a final concentration of 0.2 U/ml using (1) acetate buffer (table 2). The assay steps of the enzyme solution were then performed according to the procedure of a phytase level control and carried out in 2 ml microcentrifuge tubes (table 3). Each enzyme solution was performed in triplicate with two corresponding blanks.

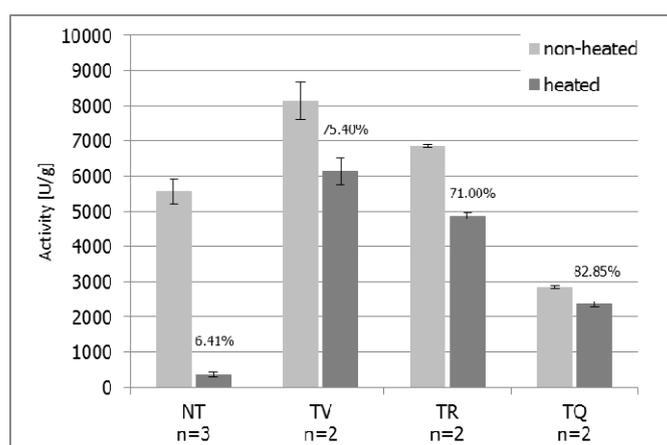
Table 3: Assay steps of the ISO method for the enzyme solution and corresponding blank

Assay steps	Enzyme solution	Blank
(1) Acetate buffer	360 µl	360 µl
Enzyme solution	40 µl	40 µl
Mix	Yes	
Pre-incubation at 37 °C	5 min	
(3) Phytate substrate	800 µl	No
(7) STOP reagent	No	800 µl
Mix	No	No
Incubation at 37 °C	30 min	No
(3) Phytate substrate	No	800 µl
(7) STOP reagent	800 µl	No
Mix	Yes	
Incubation at room temperature	10 min	
Centrifugation	15,000 × g	
Spectrophotometer	415 nm	

For each sample, the phytase activity was determined of one heated and one non-heated enzyme solution. The recovery rate of phytase activity was then calculated by referring the determined activity of the heated enzyme solution to that of the respective non-heated enzyme solution.

Results

As expected, the NT sample was highly inactivated by heating. In contrast to that, the sample TV and TR confirmed their thermostability by recovery rates of $75.40 \pm 0.04\%$ and $71.00 \pm 1.77\%$, respectively. The highest recovery rate was reached by the sample TQ with $82.85 \pm 4.07\%$ which consequently proved its high quality and best thermostable properties (figure 2).

**Figure 2:** Results of the thermostability testing of the four phytase samples.

Comparing the determined activity of the phytase samples with the stated activity of the products, it was observed that the determined activity was always higher than the stated. For the samples NT and TQ, the determined activity was approximately 10% higher whereas it was 40% higher for the TR and 60% higher for the TV.

Discussion

The phytase samples TV, TR and TQ showed high recovery rates after incubating those at high temperatures indicating thermostability. However, the methods for achieving these thermostable properties were different for each product. TR claimed thermostability due to coating technology, TQ claimed to be intrinsically thermostable and for TV both methods were applied. Against expectations, the coating of TR still protected the enzyme during heating at 75 °C although the sample was dissolved in buffer for 30 min. But at the same time, the TR product showed the lowest recovery rate compared to the products TV and TQ. The intrinsically thermostable product TQ showed the best stability most probably due to genetic engineering whereas the recovery rate of the product TV lied in between. To summarize, these tests showed that the thermostable properties of enzyme products at 75 °C are depending on the different methods to achieve their thermostability.

The higher determined activity compared to the stated activity led to the assumption that the products were highly overdosed. Overdosing of enzyme products is a possibility to assure the minimum concentration of the enzyme as well as its effect *in vivo*. A higher stability against various parameters such as temperature and pepsin concentration can additionally be achieved. With this overdosing, the samples TV and TR still had an activity around 5000 U/g after heating. The determined activity after heating of the sample TQ was slightly below the stated activity of 2500 U/g but the sample TQ was also not that highly overdosed. To confirm the determined activity and hence the overdose of the products, the samples will be sent to an external laboratory for an independent analysis.

Conclusion

The claimed thermostability of three commercial phytase products was confirmed and the comparison with the non-thermostable phytase revealed the high potential of thermostability. In further experiments, the enzyme solutions of thermostable phytase products will be exposed to different temperatures so that a profile on temperature-sensitive activity can be developed.

References

- Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung (AWT). 2004. Enzymes in Animal Nutrition
- Gizzi, G., Thyregod, P., von Holst, C., Bertin, G., Vogel, K., Faurshou-Isaken, M., Betz, R., Murphy, R., Brandt Andersen, B. 2008. Determination of Phytase Activity in Feed: Interlaboratory Study. *Journal of AOAC International* 91:259-267
- Greiner, R., Konietzny, U. 2006. Phytase for Food Application. *Food Technology and Biotechnology* 44(2):125-140
- Partridge, G. 2007. New-generation phytase with high thermostability. *Pig Progress* 23(4):33-35

Corresponding author

Cornelia Schauerhuber, DI (FH)
BIOMIN Research Center
BIOMIN Holding GmbH
Technopark 1, A-3430 Tulln
E-mail: cornelia.schauerhuber@biomin.net

Effekte einer Endo-Xylanase-Zulage auf ein energiereduziertes Futter beim Mastschwein

Imke Kühn¹, Petra Philipps², Benjamin Schröder³ und Janos Tossenberger⁴

¹ AB Vista, Darmstadt

² Kaposvár University, Kaposvár

³ AB Vista, Marlborough

⁴ Pulte GmbH & Co. KG, Rimsting

Einleitung

Im Hinblick auf die effizientere Ausnutzung der zur Verfügung stehenden Futterressourcen kann der Einsatz von Enzymen durch verbesserte Verdaulichkeit von Rohnährstoffen einen wesentlichen Beitrag leisten. Im vorliegenden Versuch wurden Effekte einer Zulage mit der Endo-1-4-beta-Xylanase (EC 3.2.1.8) auf die Leistung von Mastschweinen bei Fütterung eines energiereduzierten und preiswerteren Futters unter Einsatz alternativer Komponenten untersucht.

Material und Methoden

300 ungarische Edelschweine mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von 32,5 kg/Tier wurden zufällig auf 3 Behandlungen verteilt und in 30 Abteilen untergebracht mit je 5 weiblichen und 5 männlichen Tieren. Die Fütterung erfolgte in zwei Phasen, Tag 1-40 und Tag 41-96. Das Mehlfutter basierte im Wesentlichen auf Weizen, Gerste und Sojaextraktionsschrot bei unterschiedlichen Energiegehalten (ME-S). Die Behandlungen umfassten eine positive Kontrolle (PC) mit 13,2 MJ/kg, eine negative Kontrolle (NC) mit 12,5 MJ/kg sowie NC mit Zulage von Xylanase (NC+XYL) mit 12,5 MJ/kg + 16 000 BXU ECONASE[®]XT/kg. Die Reduktion des Energiegehaltes wurde durch Reduzierung der Hauptkomponenten und Zulage alternativer Komponenten (Weizenkleie, Sonnenblumenextraktionsschrot und Sojashalen) erreicht. In der NC wurden gleiche Gehalte an Rohprotein und Aminosäuren (SID – standardisiert ileal verdauliche Aminosäuren) beibehalten wie in der PC. Die Zusammensetzung und Inhaltsstoffe der Basisfutter sind für die beiden Versuchsphasen in Tabelle 1 dargestellt. Die Daten wurden einer Varianzanalyse unterzogen (SAS 2004). Im Falle signifikanter Behandlungseffekte wurde nachfolgend der LSD Test durchgeführt (SAS 2004).

Ergebnisse

Das mehlartige Basisfutter enthielt im Mittel native Xylanaseaktivitäten (Tabelle 2) pro kg Futter von 1072 BXU in der Phase 1 und 1110 BXU in der Phase 2. Die Behandlungen mit Xylanasezulage wiesen Aktivitäten von 17520 und 15740 BXU/kg auf jeweils für das Futter der Phase 1 und Phase 2.

Die Ergebnisse der Mastleistungen in den beiden Versuchsphasen sowie zusammengefasst über die gesamte Versuchsphase sind in Tabelle 3 dargestellt.

Von Tag 1-96 erreichte die Behandlung mit Xylanase-Zulage zum energiereduzierten Futter das Niveau der positiven Kontrolle während die Tiere der negativen Kontrolle signifikant ($p < 0,05$) schlechtere Leistungen aufwiesen. Das Endgewicht pro Tier (kg) war bei einer Reduktion des Gehaltes an Umsetzbarer Energie im Futter um 0,7 MJ/kg über 96 Tage um 2,6 kg (2,5%) und der Zuwachs um

26 g/Tag (3,3%) signifikant reduziert. Von Tag 1 -96 war die Futteraufnahme zwischen den Behandlungen nicht signifikant beeinflusst. Höherer Energiegehalt oder Zulage mit Xylanase führte zu signifikant verbesserter Futtermittelverwertung (3,20 kg/kg) im Vergleich zu NC (3,33 kg/kg). Die Zulage mit der Xylanase zum energiereduzierten Futter verbesserte die Mastleistung auf das Niveau der Schweine, die mit dem energiereichen Futter (PC) gefüttert wurden. Ein Einfluss auf die Schlachtkörperqualität wurde zwischen den Behandlungen nicht festgestellt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Basisfutter in beiden Versuchsphasen

Basisfutter	Phase 1 (0-40 Tage)		Phase 1 (40-96 Tage)	
	PC	NC	PC	NC
Inhaltsstoff (g/kg)				
Weizen	513,2	485,1	520,0	537,1
Gerste	330,7	277,3	366,7	242,0
Sojaextraktionsschrot	108,0	63,0	72,0	70,0
Weizenkleie	0	60,0	0	40,0
Sonnenblumenextraktionsschrot	0	52,0	0	33,0
Sojaschalen	0	35,0	0	50,0
Sojaöl	18,0	0	11,0	0
Futterkalk	13,2	12,2	13,2	12,2
Monocalciumphosphat	5,6	3,4	6,0	4,0
NaCl	3,0	3,0	3,0	3,0
Premix (Vitamine u. Mineralstoffe)	2,0	2,0	2,0	2,0
Lysin-HCl	4,1	4,8	4,0	4,4
DL-Methionin	0,7	0,6	0,6	0,5
L-Threonin	1,5	1,6	1,5	1,7
Nährstoffgehalte (g/kg)				
Rohprotein	166,9	168,9	146,8	146,7
Rohfat	26,3	16,9	23,9	17,8
Rohfaser	37,5	55,8	36,8	58,7
Rohasche	40,3	43,9	42,0	47,5
NfE	617,1	600,3	651,8	628,1
Lysin (SID)	8,6	8,6	7,6	7,6
Methionin+Cystein (SID)	5,4	5,4	5,0	5,0
Threonin (SID)	5,8	5,8	5,4	5,4
Tryptophan (SID)	1,8	1,7	1,6	1,6
Ca	5,8	6,1	6,3	6,4
P	4,9	5,2	5,2	5,4
ME (Schwein) (MJ/kg)	13,2	12,5	13,2	12,5

In Phase 1 (Tag 1-40) war die tägliche Zunahme zwischen den Behandlungen nicht signifikant beeinflusst. Die Futteraufnahme in der NC war mit 2051 g/Tag signifikant erhöht im Vergleich zu NC+XYL mit 1905 und PC mit 1895 g/Tag. Daraus resultierte eine signifikant schlechtere Futtermittelverwertung (kg/kg) für die Tiere der NC mit 2,85 verglichen mit 2,65 und 2,61 für NC+XYL und PC. In Phase 2 waren tägliche Zunahmen (g/Tag) und Futtermittelverwertung in der negativen Kontrolle signifikant ver-

schlechtert gegenüber der positiven Kontrolle und der Zulage mit der Xylanase. Die Zulage mit der Xylanase zur negativen Kontrolle führte zu einer verbesserten Leistung auf das Niveau der positiven Kontrolle.

Tabelle 2: Analysierte Xylanaseaktivitäten in den Versuchsfuttern

Behandlung	Xylanase-Aktivität (BXU/kg)	
	Zulage	Analysiert
Phase 1 (0-40 kg)		
Positive Kontrolle	0	1170
Negative Kontrolle	0	974
Negative Kontrolle + Xylanase	16000	17520
Phase 2 (40-96 kg)		
Positive Kontrolle	0	1130
Negative Kontrolle	0	1090
Negative Kontrolle + Xylanase	16000	15740

Tabelle 3: Mastleistungen in den beiden Versuchsphasen und über den gesamten Versuch

Parameter	Versuchstag	NC	NC + Xylanase	PC	RMSE*
Anfangsgewicht [kg]	1	32.4	32.1	32.6	4.2
Endgewicht [kg]	96	104.5^b	106.9^a	107.1^a	8.6
Tägliche Zunahmen [g/Tag]	1-40	719 ^a	719 ^a	728 ^a	118
	41-96	774 ^b	824 ^a	812 ^a	97
	1-96	751^b	780^a	777^a	78
Futteraufnahme [g/Tag]	1-40	2051 ^b	1905 ^a	1895 ^a	137
	41-96	2824 ^a	2916 ^a	2880 ^a	147
	1-96	2502^a	2495^a	2470^a	92
Futterverwertung [g Futter/g Zuwachs]	1-40	2,85 ^b	2,65 ^a	2,61 ^a	0,09
	41-96	3,65 ^a	3,54 ^b	3,55 ^{ab}	0,11
	1-96	3,33^b	3,20^a	3,19^a	0,08

*RMSE : Root Mean Square Error
abcdp<0.05

Diskussion

Unter den geprüften Bedingungen scheint in Rationen für Mastschweine bei Kombination mit der Xylanase der teilweise Austausch von importierten Rohwaren wie Sojaextraktionsschrot und Sojaöl mit einheimischen Futtermitteln wie z.B. Weizenkleie und Sonnenblumenextraktionsschrot möglich. Dies liefert einen wesentlichen Beitrag zur nachhaltigen Verwendung der zur Verfügung stehenden Futtermittelressourcen und zum Ausgleich der Nährstoffbilanz und somit zur Nachhaltigkeit in der Mastschweineproduktion.

Ein weiterer Aspekt ist die Reduktion der Futterkosten durch Verwendung preisgünstigerer Rohwaren und durch den geringeren Energiegehalt im Futter unter Beibehaltung des Leistungsniveaus.

Basis der folgenden Kalkulation sind UK Rohwarenpreise mit Stand von Dezember 2011. Im vorliegenden Versuch wurde eine Reduktion in den Futterkosten von 11% in der negativen Kontrolle gegenüber der positiven Kontrolle erzielt. Durch Zulage der Xylanase zur negativen Kontrolle wurde die Futterverwertung wieder auf das Niveau der positiven Kontrolle gebracht. Dies resultierte in einer Verbesserung der Futterkosten/kg um 14%.

Schlussfolgerungen

Im vorliegenden Versuch mit Mastschweinen verbesserte die Zulage mit der Xylanase zu dem um 0,7 MJ ME/kg energiereduzierten Futter die Leistung auf das gleiche Niveau des energiereichen Futters. Ein Einsatz eines energiereduzierten Futters sowie preisgünstigerer, einheimischer Rohwaren waren bei gleichzeitigem Einsatz der Xylanase ohne Verluste in der Mastleistung und der Schlachtkörperqualität möglich. Somit kann der Einsatz der Xylanase einen wertvollen Beitrag zur verbesserten Nachhaltigkeit in der Mastschweineproduktion leisten.

Literatur

Tossenberger J. and Kühn, I. (2011): The Effects of Endo-Xylanase application to an Energy reduced Diet on performance of Grower-Finisher pigs. Proceedings, Adelaide, Australasian Pig Science Association's annual meeting

SAS Institute, Inc.(2004): Statistical Analysis System Proprietary Software, SAS Institute Inc. Cary, NC.

Autorenanschrift

Dr. Imke Kühn
AB Vista
Feldberstr. 78
D- 64293 Darmstadt
E-Mail: Imke.kuehn@abenzymes.com

Combination of fungal 3-phytase and organic acid blend on piglet performance

Peter Ader¹, Ulrich Roser¹, Ulrich Eidelsburger², Giorgio Fusconi³ and Mauro Morlacchini³

¹ BASF SE, Lampertheim, Germany

² BASF Chemtrade GmbH, Burgbernheim, Germany

³ Centro Ricerce per la Zootecnia e l' Ambiente, Piacenza, Italy

Introduction

Phosphorus is an essential key element especially for growing animals. Inorganic P prices have dramatically increased during the last years. In 2008 the prices reached histories top level. There is a need from farmers to make as much phosphorous as possible digestible from plant material for economic and ecological reasons, whereby phytase can be considered to be the most effective and valuable tool. Since activity of an enzyme is related to the environmental pH, a change of the latter might have additional effects on phytase efficacy. The aim of the study was to evaluate if the effect of a fungal 3-phytase (Natuphos[®]) in piglet feed can be "boosted" by the organic acid containing product Lupro-Cid[®] NA.

Materials and methods

This trial was carried out with 144 Goland C21 piglets (females and castrated males) of 7.5 (± 0.85) kg live weight, weaned at approximately 26 days of age and placed on trial at approximately 28 days of age. The total treatment duration was 42 days, plus a pre-treatment period of 2 days. The animals were weighed, selected out of healthy groups at the breeding farm, which was a farm selected for its good health status. Selected piglets were assigned to the treatments in order to achieve the best homogeneity within each group and the lowest differences between treatment groups. The trial took place in the weaning rooms of the CERZOO facility. The housing management, feeding and husbandry conditions are regarded as representative of a modern commercial operation in Europe. The animals were placed in 5 cleaned, disinfected weaning rooms. Animals were kept in 36 pens with 4 animals each (9 replicates). Two days after arrival the piglets were weighed, the treatment groups balanced, and piglets allocated to each treatment. Feeding of the experimental diets commenced. During the entire trial period the animals were fed ad libitum using one steel feeder per pen, and fresh drinking water was supplied via nipple drinkers.

The four different trial diets (A, B, C, D) had the following composition (ingredients, %) (tables 1 & 2).

A: Basal diet

B: A + Lupro-Cid[®] NA (8kg/MT feed)

C: A reduced by 0.5% MCP + Natuphos[®] (1000 FTU/kg feed)

D: C + Lupro-Cid[®] NA (8kg/MT feed)

The basal diets were formulated without antibiotics or AGPs. All nutrients were supplied at normal concentrations, not to exceed the EU maximum permitted concentrations for trace minerals or vitamins. For each feeding period both diets were calculated to be isonutritive, and to meet or exceed the nutrient requirements recommended for piglets as defined by NRC (1988). All diets were analyzed for moisture, crude protein, crude fat, crude fiber, ash and starch.

Table 1: Composition of starter and grower feed for trial diet A and B

Specification		Starter (0-15 days)	Grower (15-42 days)
Corn meal	%	62.67	63.47
Soybean meal 44%	%	32.50	31.70
Animal fat	%	0.50	0.50
Monocalcium phosphate	%	0.70	0.75
Limestone	%	1.58	1.64
Salt	%	0.59	0.59
L-Lysine HCl	%	0.57	0.53
L-methionine	%	0.18	0.16
L-threonine	%	0.21	0.16
Premix piglet ¹	%	0.50	0.50

Note n. 1: Content of vitamins and oligo minerals /kg of premixture (manufactured by RDS): vit. A: 6.000.000 UI; vit. D3: 600.000 UI; vit. E : 8.000 mg ; vit. K3: 800 mg; vit. B1: 800 mg; vit. B2: 150 mg ; vit. B6 : 800 mg ; vit. B12 : 6 mg; vit. H: 40 mg; vit. PP: 10.000 mg; D-pantothenic acid: 4.000 mg; choline chloride: 150.000 mg; Mn: 24.000 mg; Fe: 80.000 mg; Cu: 8.000 mg; Zn: 30.000 mg ; Co: 300 mg; I: 960 mg; Se: 120 mg. Excipient to 1000 g: Ca carbonate

Table 2: Composition of starter and grower feed for trial diet C and D

Specification		Starter (0-15 days)	Grower (15-42 days)
Corn	%	63.56	64.23
Soybean meal 44%	%	32.30	31.70
Animal fat	%	0.50	0.50
Monocalcium phosphate	%	0.20	0.25
Limestone	%	1.38	1.38
Salt	%	0.59	0.59
L-Lysine HCl	%	0.58	0.530
L-methionine	%	0.18	0.160
L-threonine	%	0.21	0.160
Premix piglet ¹	%	0.5	0.5

Note n. 1: Content of vitamins and oligo minerals /kg of premixture (manufactured by RDS): vit. A: 6.000.000 UI; vit. D3: 600.000 UI; vit. E : 8.000 mg ; vit. K3: 800 mg; vit. B1: 800 mg; vit. B2: 150 mg ; vit. B6 : 800 mg ; vit. B12 : 6 mg; vit. H: 40 mg; vit. PP: 10.000 mg; D-pantothenic acid: 4.000 mg; choline chloride: 150.000 mg; Mn: 24.000 mg; Fe: 80.000 mg; Cu: 8.000 mg; Zn: 30.000 mg ; Co: 300 mg; I: 960 mg; Se: 120 mg. Excipient to 1000 g: Ca carbonate

The piglets were individually weighed during the study. Body weight was measured on day 0, 15 and 42. Feed intakes per pen determined at day 15 and 42. Daily weight gain and feed conversion ratio (FCR) were calculated per pen.

Data were analyzed by the GLM (General Linear Model) procedure of SAS (SAS, 2002-2003, release 9.1) using ANOVA (Analysis of Variance) as the main statistical test. Student's "t" Test was used to compare the means of each group. The level of significance to indicate differences stated in the ANOVA model were $P \leq 0.05$ when the difference was statistically significant, while $0.05 < P \leq 0.10$ when the difference was a near-significant trend. The raw data were analyzed for outliers.

Results

All piglets remained in good health and no symptoms of respiratory disease were recorded. No animals died during the trial. The performance parameters are described in Table 3. Body weight was not significantly influenced by any of the treatments. The average daily gain (ADG) was significantly improved in animals receiving Diet D (combination of organic acid + 3-phytase) compared to Diet A (negative control) and Diet B (organic acid) during the 1st growing period (D0-D15). There were no statistical differences in ADG during the period D15-D42. For the overall period (D0-D42) a significant trend could be observed ($P=0.10$).

The feed intake of the piglets was not influenced by any of the treatments. The feed conversion ratio (FCR) was not significantly influenced by the treatments during the 1st (D0-D15) and 2nd growing period (D15-D42). In the overall trial period (D0-D42) the treatment with Diet D (combination of organic acid + 3-phytase) statistically improved the FCR in comparison with the treatment Diet A and B.

Table 3: Influence of adding organic acids, a 3-phytase or a combination of organic acid + 3-phytase on the performance parameters of weaner piglets

		Diet A	Diet B	Diet C	Diet D	Treatment effect P =	SEM
Body weight							
D0	kg	7.4	7.5	7.4	7.4	0.97	0.15
D15	kg	12.2	12.3	12.6	12.8	0.22	0.21
D42	kg	24.0	24.0	24.2	24.9	0.25	0.38
Average daily gain							
D0-D15	g	340 a	341 a	365 ab	383 b	0.02	10.55
D15-D42	g	420	418	418	434	0.72	11.32
D0-D42	g	394	392	400	417	0.10	7.57
Feed intake							
D0-D15	g	335	328	333	343	0.91	15.25
D15-D42	g	834	845	816	827	0.47	13.10
D0-D42	g	668	672	655	666	0.46	8.02
Feed conversion ratio							
D0-D15		1.00	0.97	0.91	0.90	0.52	0.06
D15-D42		1.98	2.03	1.97	1.91	0.21	0.04
D0-D42		1.70 b	1.72 b	1.64 ab	1.60 a	0.02	0.03

Discussion

The results of the present experiment clearly show a positive effect on average daily gain and feed conversion ratio in weaned piglets, if an organic acid product is used in combination with a 3-phytase. This is in line with previous results in the scientific literature showing an additive effect or even synergistic effect of a combined use of organic acids, mainly based on formic acid, and a 3-phytase (Callesen, 1999; Omogbenigun et al. 2003; Diebold and Eidelsburger, 2006).

The superior effects on animal performance by a combined use of organic acids and microbial phytase are mainly related to the fact that the modes of action of both additives are supporting each other.

Addition of phytase allows reducing P- and Ca-levels in the diet, which lowers the acid binding capacity in the feed and therefore supports the acidifying potential of acids (Eidelsburger, 2001). Callesen (1999) demonstrated the effect of supplementation of an organic acid mixture alone, and the acid mixture and phytase in combination with the diet of weaner piglets, and found additive effects on weight gain and feed conversion. Jongbloed et al. 1996 demonstrated strong additive effects of a combined administration of organic acids in combination with a 3-phytase in grower pigs.

The beneficial effects of a combination of organic acid and phytase could also be demonstrated in sows. Grela and Kumek (2002) found increased protein content in the colostrum and a higher concentration of phosphorus and zinc in colostrum and milk upon phytase or organic acid supplementation than compared to a control diet. Body weight of new born and weaned piglets was also enhanced. The observed effects were highest when combining phytase and formic acid.

The administration of the organic acid alone did not improve the performance parameters of the weaned piglets in this experiment. A possible explanation for this result may be related to the fact that a buffered organic acid mixture was used in the diets. Such products do not provide the full acidification potential compared to a non-buffered straight organic acid product and therefore their efficacy in a diet with high buffer capacity might be limited to a certain extent. The explanation for the substantial improvement by the combined use of such a buffered organic acid product with phytase may be based on the fact that the buffer capacity in the diet supplemented with phytase is reduced and therefore the acidifying potential of the organic acid product is improved. This is in line with a lot of experiments on the mode of action of organic acids in pig feeding which prove that one part of the efficacy is related to the acidification and the other part is depending on the efficacy of the anion of the organic acid (Eidelsburger 2001). Based on the results of the present experiment a combined use of organic acids and a phytase in feeding of weaner piglets is recommended.

References

- Callesen, J. (1999): Commercial feed products and feed mixes for piglets. Report 409, Lansvalget for Svin, Denmark
- Diebold, G., Eidelsburger, U. (2006): Acidification of diets as an alternative to antibiotic growth promoters. In: Antimicrobial Growth Promoters: Where do we go from here? (eds. A.K. Kies, D. Barug, M.W.A. Verstegen, J. De Jong), Wageningen Academic Publishers, pp. 311-327
- Eidelsburger, U. (2001): Feeding short chain organic acids to pigs. In: Recent Developments in Pig Nutrition 3 (eds. P.C. Garnsworthy, J. Wiseman), Nottingham University Press, pp. 107-121
- Grela, E. R., Kumek, R. (2002): Effect of feed supplementation with phytase and formic acid on piglet performance and the composition of sow colostrum and milk. *Med. Weteryn.* 58: pp. 375-377
- Jongbloed, A. W., Kemme, P. A., Mroz, Z. and Jongbloed R. (1996): The effect of organic acids in diets for growing pigs on the efficacy of microbial phytase. In: Phytase in Animal Nutrition and Waste Management. M. B. Coelho, E. T. Kornegay (editors), BASF Corp., Mount Olive, NJ, p. 515
- Omogbenigun, F. O., Nyachaoti, C. M., Slominski B. A. (2003): The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 81: pp. 1806-1813

Corresponding author

Dr. med. vet. Peter Ader
BASF SE
Global Marketing Animal Nutrition
Chemiestrasse 22
68623 Lampertheim, Germany
E-Mail: peter.ader@basf.com

Natuphos®

Pick Quality. Pick Experience.
Pick the Original Phytase.

The most efficient phosphorus release from phytate.

The most stable phytase in premixes.

- Excellent, long-proven quality
- 20 years experience in phytase application
- High performing microbial 3-phytase enzyme
- A pioneer—the original phytase!

Cut your costs for inorganic phosphorus by maximum release of phytate-bound phosphorus, using a Natuphos® dosage specially optimized for your feed.



20 YEARS
natuphos®
THE ORIGINAL PHYTASE



BASF Nutrition – the healthy decision.

BASF
The Chemical Company



**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

agromed
natural effects

info@agromed.at | www.agromed.at

Einfluss von Hefezellwänden und Nukleotiden auf den Immunstatus von Absetzferkeln

Arthur Kroismayr¹, Qimeng Li² und Karl Schedle²

¹ Agromed Austria GmbH, Kremsmünster, Österreich

² Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

In der Europäischen Union wurde mit Jänner 2006 der Einsatz von subtherapeutischen Antibiotikamengen als Leistungsförderer in der Nutztierernährung verboten, um der steigenden Antibiotikaresistenzproblematik in der Human- und Veterinärmedizin Einhalt zu gebieten. Dieses Verbot gab Anstoß zur Suche nach alternativen, nicht-antibiotischen Wirkstoffen, welche vergleichbare leistungs- und gesundheitsfördernde Eigenschaften aufweisen. Mögliche Alternativen scheinen sogenannte Prä- oder Probiotika zu sein. Unter anderem können auch Hefezellwände und Nukleotide in der modernen Tierernährung eingesetzt werden um präbiotische Wirkungen zu erzielen.

Eine potentielle prä- und probiotische Wirkung von Hefeprodukten wurde bereits in der Literatur beschrieben (Richter et al. 2006, Lee et al. 2009). Zusätzlich verweist die wissenschaftliche Literatur auch auf eine immunstimulierende Wirkung solcher prä- bzw. probiotischer Futtermittelzusatzstoffe (Schedle et al. 2008, Mair et al. 2010).

Nukleotide (z.B. aus Hefezellwänden) spielen eine zentrale Rolle in zahlreichen biologischen Prozessen. Unter anderem beeinflussen sie zentrale Immunfunktionen wie etwa Immunsuppression, die Reifung und Funktion von T – Zellen und die Aktivität von Killerzellen. Bei Tieren wurde nachgewiesen, dass Nukleotide die Erneuerung von Leberzellen und Darmzellen positiv beeinflussen können (Carver 1999).

Ziel dieser Studie war es, die Wirkung eines natürlichen Hefeproduktes bestehend aus Hefezellwänden und Nukleotiden (HN) auf dessen Wirkung von immunologisch relevanten Geweben zu testen.

Material und Methoden

Die Haltung und Fütterung der Tiere erfolgte unter der Leitung von der Firma Agromed (Kremsmünster, Österreich). Der Fütterungsversuch fand auf einem Praxisbetrieb (Familie Rösner, Kremsmünster) statt. 40 frisch abgesetzte männliche Ferkel (Alter 28 Tage) mit einem Lebendgewicht von etwa 10 kg wurden in zwei Versuchsgruppen eingeteilt. Die Fütterung der zwei Futtermischungen (Kontrolle bzw. Versuch) erstreckte sich über 28 Tage bis zum Erreichen eines Lebendgewichts von etwa 23 kg. Die Tiere beider Futtergruppen erhielten handelsübliches Ferkelaufzuchtfutter (Tabelle 1) welches sich lediglich durch den Zusatz von HN in der Versuchsgruppe von der Kontrollgruppe unterschied.

Es stand ein vollklimatisierter, strohloser Ferkelaufzuchtstall mit Teilspaltenboden und beheizter Liegefläche zur Verfügung, der zuvor ganzräumig gereinigt und desinfiziert wurde.

Die Tiergewichte und der Futterverbrauch konnten nur gruppenweise ermittelt und somit statistisch nicht ausgewertet werden.

Tabelle 1: Komponenten und Nährstoffgehalte der Ferkelaufzuchtfutter

Komponente	% im Kontrollfutter	% im Versuchsfutter
Weizen	30,15	30,00
Gerste	25,00	25,00
Sojaschrot HP 47%	21,35	21,35
Mais	18,00	18,00
Prämix	5,50	5,50
HN Zusatz (Nutrifix 100 [®] , Agromed, Österreich)	-	0,15
Errechnete Nährstoffgehalte		
TM, %	88	88
Rohprotein, %	18,3	18,3
MJ ME	13,3	13,2

Die Schlachtung erfolgte auf dem Schlachtbetrieb Firma Friedrich Pöll (Vorchdorf, OÖ) mit fachkundigem Personal unter der Leitung des Institutes für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie (TTE). Zur Probengewinnung wurden 11 repräsentative Tiere der Kontrollgruppe und 13 repräsentative Tiere der Versuchsgruppe herangezogen.

Sofort nach Entnahme des Verdauungstrakts wurden aus dem Ende des Ileums (ca. 10 cm vor dem Caecum), den mesenterialen Lymphknoten und der Leber unverzüglich Gewebeproben entnommen, in Cryoröhrchen mittels flüssigen Stickstoffs schockgefroren und bei -80 °C bis zur weiteren Analyse gelagert.

Aus den Gewebeproben der immunologisch aktiven Gewebe wurde die total-RNA nach der Methode von Li et al. (2011) extrahiert. Anschließend wurde die total RNA auf ihre Qualität kontrolliert. Die Effekte der Fütterung auf die mRNA Expressionslevels einiger immunrelevanter Faktoren wurde mittels der real-time RT-PCR nach der Methode von Li et al. (2011) erhoben. Als Marker des Immunstatus dienten der Transkriptionsfaktor NFkB, sowie vier pro-inflammatorische Markergene (TNF α , IL6, IL8, IL10). Zur relativen Quantifizierung wurden die Referenzgene β -Actin und NADPH herangezogen.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte durch einen Mittelwertvergleich der zwei Stichproben. Als statistisches Testverfahren wurde der t-Test herangezogen. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm SAS (SAS INST., INC., CARY, NC).

Als statistisches Signifikanzniveau wurde ein Alpha von $\leq 0,05$ angenommen. Für eine statistische Tendenz wurde ein Alpha von $\leq 0,1$ angenommen. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen sind durch Hochbuchstaben gekennzeichnet. Unterschiede die eine statistische Tendenz verzeichnen, wurden mittels Hochbuchstaben in Klammer markiert.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Genexpressionsanalysen sind in Tabelle 2 dargestellt. Im Ileum zeigen die Ergebnisse eine um mehr als die Hälfte reduzierte Expression ($p < 0,05$) des pro inflammatorischen Markergens IL6.

Die Genregulation in den am distalen Ileum angrenzenden mesenterialen Lymphknoten ließ in der Tendenz ($p < 0,05$) eine Reduktion des Transkriptionsfaktors NFkB sowie eine auf-Regulation des IL 10 erkennen.

Im zentralen Stoffwechselorgan von Säugetieren, der Leber, konnte eine signifikante Verringerung ($p < 0,05$) des Transkriptionsfaktors NFkB, sowie der pro-inflammatorischen Gene TNF α und IL6 beobachtet werden.

Tabelle 2: x-fache Genexpression (1=Kontrolle) der Versuchsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe

Gewebe	Kontrolle	Versuch	SEM
<i>Ileum</i>			
NFkB	1,00	0,70	0,093
TNF α	1,00	1,18	0,126
IL6	1,00 ^a	0,43 ^b	0,137
IL8	1,00	1,30	0,182
IL10	1,00	1,34	0,165
<i>mesenteriale Lymphknoten</i>			
NFkB	1,00 ^(a)	0,63 ^(b)	0,094
TNF α	1,00	0,85	0,097
IL6	1,00	0,99	0,099
IL8	1,00	1,3	0,151
IL10	1,00 ^(b)	1,87 ^(a)	0,232
<i>Leber</i>			
NFkB	1,00 ^a	0,61 ^b	0,079
TNF α	1,00 ^a	0,60 ^b	0,116
IL6	1,00 ^a	0,25 ^b	0,188
IL8	1,00	1,11	0,114
IL10	1,00	0,82	0,113

Diskussion

Die Regulation der Expression inflammatorischer Markergene stellt eine Möglichkeit dar, potentielle Effekte von HN der Nahrung auf das Immunsystem zu studieren. TNF α unter anderem ist ein derartiges, gut untersuchtes pro-inflammatorisches Zytokin mit vielen biologischen Funktionen (Vasalli 1992). Es aktiviert z.B. indirekt Leukozyten und stimuliert andere Mediatoren. Weiters fungiert es als zentrales Element im Abwehrmechanismus von Säugetieren gegenüber inflammatorischen Faktoren mikrobieller Herkunft (z.B. Lipopolysaccharide) und bei Verletzungen (Goetz et al 2004, Laskin and Pendino 1995). Um die Aussagekraft einzelner Gene zu erhöhen ist es von Vorteil mehrere Gene einer Wirkungsgruppe (z.B. pro-inflammatorische Gene) bzw. deren Gegenspieler (anti-inflammatorische Gene) zu untersuchen.

In der vorliegenden Studie bewirkte der HN-Zusatz eine Reduktion der Genexpression von pro-inflammatorischen Markergenen in den Geweben Ileum, Lymphknoten und Leber. Offenbar wurde das Immunsystem durch den HN-Zusatz insgesamt entlastet. Unterstützt wird diese Argumentation durch die signifikante Aufregulation des anti-inflammatorischen Markergens IL-10 in den mesenterialen

Lymphknoten um den Faktor 1,8. Durch eine Entlastung des Immunsystems stehen dem Tier mehr Energie und Protein zur Verfügung (Kaspars 2011). Eine verbesserte Energie- und Proteinversorgung können daher zu einem ausgeprägteren Wachstum der Tiere beitragen. Die numerisch verbesserten gruppenweise erhobenen Leistungsdaten in der HN Gruppe unterstützen die Ergebnisse der Genexpressionsanalyse da eine Entlastung der Immunabwehr die Leistungsbereitschaft grundsätzlich erhöhen sollte (Daten sind nicht dargestellt). Unklar scheint jedoch noch, inwieweit sich ein derartiger Effekt als Ausdruck eines reduzierten Infektionsdrucks interpretieren lässt.

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der Studie zeigen eine signifikante Reduktion bestimmter pro inflammatorischer Markergene, sowie deren Transkriptionsfaktor NFkB, in den untersuchten Geweben. Anhand dieser Ergebnisse kann daraus geschlossen werden, dass sich ein HN Zusatz zum Ferkelfutter, entlastend auf das Immunsystem der im Versuch eingesetzten Tiere ausgewirkt hat.

Literatur

- Carver JD. (1999): Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Paediatr Suppl.* 88:83-88
- Goetz F.W., Planas J.V. and MacKenzie S. (2004): Tumor necrosis factor. *Dev. and Comp. Immunology* 28, 487-497
- Kaspars B. (2011) Energy demand and energy metabolism in the immune system. *Proc Soc Nutr Physiol.* 20:17-21
- Laskin D.L. and Pendino K.J. (1995): Macrophages and inflammatory mediators in tissue injury. *An. Rev. of Pharm. and Toxicol.* 35, 655-677
- Li Q., Domig KJ., Etle T., Windisch W., Schedle K. (2011): Evaluation of potential reference genes for relative quantification by RT- qPCR in different porcine tissues derived from feeding studies. *Inter J Molecularb Sci.* 12: 1727-1734
- Mair C., Piltzner C., Pfaffl MW., Schedle K., Mayer HHD., Windisch W. (2010): Inulin and probiotics in newly weaned piglets: Effects on intestinal morphology, mRNA expression levels of inflammatory marker genes and haematology. *Arch Anim Nutr.* 64: 304-321
- Schedle K., Pfaffl W., Piltzner C., Meyer HHD., Windisch W. (2008): 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
- Vasalli P. (1992): The pathophysiology of tumor necrosis factor. *Annu. Rev. Immunol.* 10, 411-452

Autorenanschrift

Dr. Arthur Kroismayr
Agromed Austria GmbH
Bad Haller Straße 23
A-4550 Kremsmünster
E-Mail: Kroismayr@agromed.at

Effects of diet complexity and a sweetener on weaned piglets' performance

Patrick Schlegel¹, Roy Hall² and Bastien Viel¹

¹ Pancosma S.A. Le Grand–Saconnex, Geneva, Switzerland

² Cooperative Research Farms, Richmond, VA, U.S.A.

Introduction

At weaning, reduced feed intake and subsequent performance of piglets is a major issue. To improve piglet performance various strategies have been developed. Feed industry has selected a wide range of high nutritional quality ingredients in order to limit piglet performance decrease due to weaning. However these ingredients such as milk derivatives or spray-dried porcine plasma are expensive. So their inclusion levels are limited to minimize feed costs. That is why alternative products able to improve piglet performance in the absence or reduction of these ingredients are searched. Sweeteners have traditionally been used to improve feed intake. In addition, recent research has shown that a saccharin-based intense sweetener (Sucram, Pancosma) increases intestinal glucose absorption in piglets (Moran et al., 2010a). This explained the improved performance observed when piglets were fed this product in previous studies. However, there is no available data on the relationship between the composition of the diet and the supplementation with this sweetener. Therefore the aim of this trial was to investigate if this high intensity sweetener could improve performance of piglets when combined with various diet complexities.

Experimental procedure

Three hundred and sixty crossbred piglets aged 18 days were allocated according to age, sex and body weight for 46 days to 36 pens of 10 animals each. The trial was arranged according to a 2 x 3 factorial design. The first factor was the sweetener inclusion in the diet, with 2 levels: no supplementation versus 500, 250, and 130 g/t respectively from day 0 to 11, 12 to 25 and 26 to 46 after weaning. The second factor was the complexity of the diet from day 0 to 25, with 3 levels: low, medium or high (table 1). The six dietary treatments are detailed in the following table.

Table 1: detail on the six dietary treatments

Treatment	High	Medium	Low	High_SW	Medium_SW	Low_SW
Diet (day 1 to 25)	High	Medium	Low	High	Medium	Low
Sweetener	No	No	No	Yes	Yes	Yes

Diets were calculated to be iso energetic between treatments with 3486 kcal/kg ME from day 1 to 11, 3466 kcal/kg ME from day 12 to 25 and 3440 kcal/kg ME from day 26 to 46.

The complexity of the diet was modulated through the inclusion levels of dried whey, cheese by-products, fish meal, spray dried porcine plasma and dried red blood cells. The following table details the difference in ingredients ratios between the three types of diet, taking the medium one as a reference.

Table 2: Diet complexity according to their ingredient ratio

	Diet complexity		
	High	Medium	Low
Day 1 to 11			
Whey dried	1.56	1.00	1.00
Cheese by-product	3.17	1.00	0.00
Fish meal, men hadn	1.67	1.00	1.00
Porcine plasma, spray dried	2.67	1.00	0.00
Day 12 to 25			
Whey dried	2.00	1.00	1.00
Cheese by-product	2.00	1.00	0.00
Red blood cells, spray dried	2.00	1.00	0.00

Feed intake and body weight were measured per pen on days 11, 25 and 46 post weaning. Average daily feed intake, average daily gain and gain to feed ratio were evaluated for each test period and for the whole trial.

Data were analyzed using the general linear procedure of Statistix, Windows. Results were considered as significant when $P < 0.05$.

Results

No interaction between the diet complexity and the sweetener addition were observed ($P > 0.28$), so the effect of these two variables will be independently presented.

For the overall period, the average daily gain and average daily feed intake were improved in highly complexed diets ($P < 0.05$) as presented in table 3. However there was no effect of the diet complexity on gain to feed ratio ($P = 0.61$).

Table 3: Effects of diet complexity on pig performance from day 1 to 46 (a, b, $P < 0.05$)

	Diet complexity			SEM	P-value
	High	Medium	Low		
Average daily gain (g/d)	540 ^a	486 ^b	501 ^b	8	< 0.001
Average daily feed intake (g/d)	769 ^a	690 ^b	710 ^b	12	< 0.001
Gain to feed ratio (g/kg)	703	705	708	3	0.606

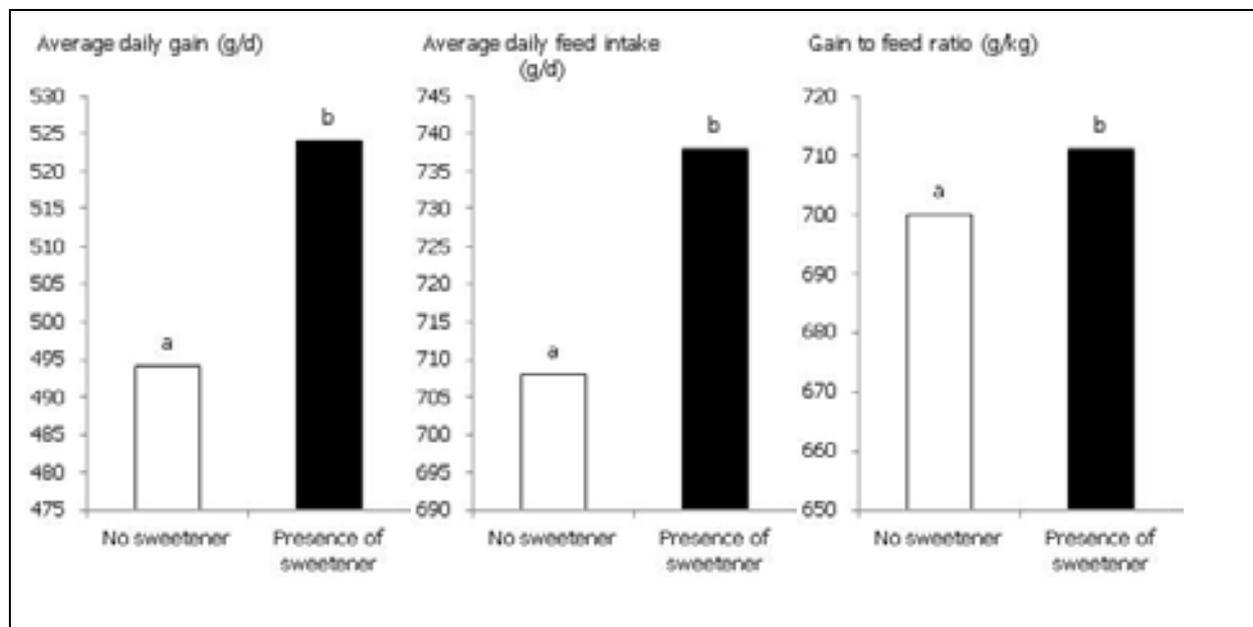
Up to day 25, the highly complex diet improved daily gain and daily feed intake of piglets ($P < 0.05$), but no difference could be observed between medium and low complexity diets (cf. Table 4). In terms of feed efficiency, there was no effect of the treatments until day 11. However, gain to feed ratio tended to be increased in piglets fed the most complex diet compared to the others ($P = 0.07$).

Table 4: Effect of diet complexity on piglet performance per trial period (a, b, $P < 0.05$)

Parameters	Diet complexity			SEM	P-value
	High	Medium	Low		
Day 1 to 11					
Average daily gain (g/d)	303 ^a	264 ^b	261 ^b	7	< 0.001
Average daily feed intake (g/d)	281 ^a	246 ^b	238 ^b	6	< 0.001
Gain to feed (g/kg)	1082	1077	1105	13	0.317
Day 11 to 25					
Average daily gain (g/d)	468 ^a	372 ^b	391 ^b	11	< 0.001
Average daily feed intake (g/d)	608 ^a	504 ^b	525 ^b	13	< 0.001
Gain to feed (g/kg)	769	736	748	10	0.073
Day 25 to 46					
Average daily gain (g/d)	742	710	737	11	0.118
Average daily feed intake (g/d)	1195 ^a	1106 ^b	1147 ^{ab}	17	0.006
Gain to feed (g/kg)	622 ^a	643 ^b	644 ^b	5	0.008

During the last period, average daily gain was not affected by the type of diet ($P = 0.118$). Piglets fed the highly complex feed exhibited greater feed intake compared to those fed the medium diet. As a result, the high complex diet led to lower gain to feed ratio ($P < 0.01$).

The addition of sweetener improved average feed intake (+4.2%, $P = 0.04$), average daily gain (+6.1%, $P < 0.01$), final body weight (+5.1%, $P < 0.01$) and gain to feed ratio (-1.6%, $P < 0.01$) for the whole trial duration.

**Figure 1:** effect of the sweetener on piglet performance between day 1 and day 46 (a, b, $P < 0.05$)

Up to day 11, the presence of the sweetener did not affect any of the parameters recorded ($P > 0.21$ – Table 5).

Table 5: Effect of sweetener addition on piglet performance per trial period

	Sweetener		SEM	P-value
	no	yes		
Day 1 to 11				
Average daily gain (g/d)	271	281	6	0.274
Average daily feed intake (g/d)	252	257	5	0.544
Gain to feed ratio (g/kg)	1078	1098	11	0.211
Day 11 to 25				
Average daily gain (g/d)	393	428	9	0.013
Average daily feed intake (g/d)	526	566	11	0.017
Gain to feed ratio (g/kg)	745	757	8	0.289
Day 25 to 46				
Average daily gain (g/d)	710	749	9	0.007
Average daily feed intake (g/d)	1128	1170	14	0.048
Gain to feed ratio (g/kg)	631	641	4	0.090

From day 12 to 46, weight gain and feed intake were increased in groups supplemented with the sweetener. In terms of feed efficiency, there was no effect of the additive between days 11 and 25. Body weight at day 25 was increased by the sweetener (+4.5%, $P = 0.01$). However, from day 25 to 46, gain to feed ratio tended to be increased in piglets supplemented with the sweetener ($P = 0.09$).

Discussion

These results show that diets made with highly complex formulas increase performance of piglets after weaning. This is in accordance with the available literature (Dritz et al., 1996). Interestingly, there is no interaction between the complexity of the diet and the presence of the sweetener. In the intestine, the activation of sweet taste receptor by this product upregulates sodium-glucose Co-transporter (SGLT1) increases leading to an increased glucose uptake (Moran et al., 2010a). The level of dietary carbohydrates is also known to affect the regulation of intestinal SGLT1 (Moran et al., 2010b). In the present trial, the highly complex diet contained 19% and 12% sugars respectively from day 1 to 11 and day 12 to 25, while the medium and low complex diets were made of 12% and 6% sugars during these periods. Based on these modes of action, a reduced effect of the sweetener in highly complex diet would have been expected, but this did not occur. This may be explained by the individual effect of the sweetener on the animals. In the present trial, piglets were weaned relatively young. In these conditions, animals first need to cover their needs, but they can also be limited by their ingestion capacities. Moreover the sweetener should first act on gut nutrition before being efficient on zootechnical performance. This can explain the evolution of the effect of SUCRAM® during this trial. First, it improved the growth of the intestinal mucosa. Then, this led to better gut health and subsequent well being and intake. Finally, feed utilization was improved. As a result, global feed intake, body weight gain and feed efficiency were increased in of piglets fed SUCRAM®.

References

- Moran A.W., Al-Rammahi M.A., Arora D.K., Batchelor D.J., Coulter E.A., Daly K., Ionescu C., Bravo D., Shirazi-Beechey S.P. (2010a). Expression of Na⁺/glucose co-transporter 1 (SGLT1) is enhanced by supplementation of the diet of weaning piglets with artificial sweeteners. *British Journal of Nutrition*. 104 (5): 637-646
- Moran A.W., Al-Rammahi M.A., Arora D.K., Batchelor D.J., Coulter E.A., Daly K., Ionescu C., Bravo D., Shirazi-Beechey S.P. (2010b). Expression of Na⁺/glucose co-transporter 1 (SGLT1) in the intestine of piglets weaned to different concentrations of dietary carbohydrate. *British Journal of Nutrition*, 104, pp 647-655
- Dritz, S. S., K. Q. Owen, J. L. Nelssen, R. D. Goodband, and M. D. Tokach. 1996. Influence of weaning age and nursery diet complexity on growth performance and carcass characteristics and composition of high-health status pigs from weaning to 109 kilograms. *J. Anim Sci.* 74:2975-2984.

Corresponding author

Bastien Viel
PANCOSMA
Voie des Traz 6
1218 Le Grand-Saconnex, Switerland
E-mail : bastien.viel@pancosma.ch

Evaluation of polyphenols' influence on rabbits' digestive processes

Paulius Matusevičius¹, Jerzy Juśkiewicz², Przemysław Zduńczyk², Krzysztof Kozłowski³, Heinz Jeroch³ and Zenon Zduńczyk²

¹ Lithuanian University of Health Sciences Veterinary Academy, Kaunas, Lithuania

² Institute of Animal Reproduction and Food Research of Polish Academy of Sciences, Olsztyn, Poland

³ University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Poultry Sciences, Olsztyn, Poland

Introduction

Berries, especially those characterized by dark-blue color transition to black, are rich in anthocyanin, and their antioxidant activity is high. In the study, antioxidant activity significantly correlated with total content of phenolic compounds and anthocyanin in berries (Kalt W, *et al.*, 1999). Black currant (*Ribes nigrum L.*) berries are rich in anthocyanin. There is some amount of polyunsaturated γ -linolenic acid valuable for human nutrition and new potentially useful compounds are identified.

The anticancer effect of polyphenols has been determined and biochemical mechanisms that may affect cell proliferation and differentiation control is already known. This just confirms the importance of polyphenols in human nutrition and disease prevention (Gee and Johnson, 2001). Flavonoids are among the most properly researched groups of polyphenol compounds and can inhibit formation of free radicals and strengthen the functioning of endogenous antioxidants (Nijveldt *et al.*, 2001). Large amounts of flavonoids are found in black currant berries.

The objective: To investigate an effect of blackcurrant (*Ribes nigrum L.*) products, characterized by its antioxidant activities, on digestive processes in rabbit.

Materials and methods

Research was conducted at Vivarium of the Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy and at Animal Reproduction and Food Research Institute of Polish Academy of Sciences. Rabbits were distributed into six groups of five animals each, according to the analogues principle. Research was carried out with the New Zealand breed rabbits (with 6 groups of 5 rabbits). All rabbits were delivered during one reproductive cycle (50 percent of males/50 percent of females). Rabbits were kept individually in wire mesh cages with flat floor, in enclosed room. The animals were fed and watered *ad libitum* during whole test time.

Rabbits from all groups were kept and cared in the same conditions: air temperature – 18–20 °C and relative humidity – 60–75 %. Relative daylight mode day/night – 16/8 hours. In order to determine the growth rate of the animals, rabbits were weighed at the beginning and at the end of the test; feed conversion degree was also calculated. The diets compounded of (in kg OM): crude ash, 49 g; crude protein, 175; 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.

Total energy volume of standard diets consisted of: 21 percent of energy from protein/7 percent from fat/72 percent from carbohydrates. Energy volume of diets enriched with fat consisted of: 17 percent of energy from protein / 32 percent from fat / 51 percent from carbohydrates.

Results and discussion

During the tests signs of diarrhea have not been observed in rabbits. Black currant cake in a diet with increased fat content had influence on a greater feed intake than in the standard diet with black currant cake (5,0 percent increase at higher fat content), but the data were statistically unreliable. Blackcurrant cake in diets for all groups improved the growth of rabbits. Standard diet with added blackcurrant cake had a greater effect on the rabbit growth rates as compared with the group rabbits fed fat-enriched diet.

Decrease of feed conversion ratio was determined in rabbits, fed standard diet with blackcurrant cake. The standard diet was more effective than diet with higher fat content. Performed analysis of the digestion's physiological parameters showed that the relative weight of small intestine with digesta and pH values of digesta were similar in all groups.

Feeding on the standard diet with black currant cake significantly decreased viscosity of small intestine's content in rabbits. Activities of mucosal disaccharidases (sucrase, maltase and lactase) had no effect on rabbits, fed experimental diets with feed additives. The obtained results showed that diet supplementation with black currant cake did not affect weight of caecum and colon tissue.

The obtained data was statistically significant between the treatment experimental groups, according to colon tissue weight. The lowest weight of caecum and colon digesta was determined respectively. Concentration of dry matter in caecum and colon did not differ between the experimental groups.

The lowest pH of caecum and colon content was determined in peers. Concentration of caecal ammonia increased significantly in rabbits, fed on diets with blackcurrant cake and higher fat content. The highest activities of caecal α -glucosidase, β -glucosidase and β -glucuronidase were determined in digestive tract of rabbits from higher fat content group. Maximum bacterial β -galactosidase activity was determined. Activity of bacterial α -galactosidase in stomach and in a part of digestive tract remained at the same level using different diets. Dominance of acetic acid and propionic as well as butyric acid was characteristic of caecal short-chain fatty acid (SCFA) concentration. Added blackcurrant cake had influence on reduction of total amount of SCFA in caecum.

Conclusions

The study has shown that blackcurrant cake and higher fat level in a diet did not affect the physiological parameters of small intestine.

The main estimated effect was inhibition of oxidation processes in caecum – thus proving antibacterial properties with positive effect on feed intake and growth rate.

References

- Gee J.M., Johnson I.T. (2001): Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Curr Med Chem.* 8, 1245-55
- Kahkonen MP, Hopia AI, Heinonen M. (2001): Berry phenolics and their antioxidant activity. *J agric Food Chem.* 49, 4076-82
- Lu Y., Sun Y., Foo L.Y. (2000): Novel pyranoanthocyanins from black currant seed. *Tetrahedron Letters.* 41, 5975-8

Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D., Boelens P.G., Norren K., Leeuwen P.(2001): Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am J Clin Nutr. 74, 418-25

Corresponding author

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

Compared to a conventional treatment, a non activated charcoal reduced diarrhoea of calves subject to *Escherichia coli*

Catherine Ionescu¹, Pedro Ferreti² and David Bravo¹

¹ Pancosma S.A., Le Grand–Saconnex/Geneva, Switzerland

² NanoAgro, Buenos Aires, Argentina

Introduction

Weaning calves are highly subject to diarrhea due to *Escherichia coli*. Farmers usually call veterinarians to cure the disease. There is some increasing interest to find some alternatives to traditional antibiotic treatments. Activated charcoals have shown some ability to adsorb *E. coli* producing verotoxin *in vitro* (Naka et al. 2001). However an *in vivo* test looking at activated charcoal binding efficiency for *E. coli* O157:H7 in gastrointestinal fluids of ewes (Knutson et al., 2006) showed the contrary. However, none of these trials looked at the secondary effects of *E. coli* infection in animals such as diarrhoea or performance. The aim of this study was to check if a non activated charcoal (Carbovet[®], PANCOSMA) could alleviate the negative effects of an *E. coli* challenge in calves. The product compared a traditional veterinary treatment in calves subject to *Escherichia coli* diarrhoea in a field trial held in Argentina.

Materials and methods

The study included 12 weaning calves of mean live weight 34.9 kg (\pm 3.5) and kept in individual pens. The calves were fed milk and dry feed. Milk consumption was not measured and fixed to 2 L/head/day.

The calves were allocated to 2 treatments based on diarrhoea occurrence. The 2 treatments consisted in the administration of either a non activated charcoal Carbovet[®] (CARB) or a traditional veterinary treatment (ANTIB) for a 20 days period. In the CARB group, calves were given the product through the milk at a dose of 20 g Carbovet[®]/head/day during the first 6 days on trial and at a dose of 10 g Carbovet[®]/head/day for the following 14 days. The veterinary treatment consisted in the oral administration during 3 days of 30 mL Estreptocarboftiazol (ftalisulfatiazol, dihydro-streptomycin sulphate, coffee charcoal extract & dimethyl-polyxyloxan) and 40 mL Brebaje (streptomycin sulfate, sodium sulfadimethylpyrimidine & galotenic acid) and injections of 6 mL Terramycin (oxytetracyclin) and 5 mL Diafin (benzetimide hydrochloride & enterofloxacin).

The presence of *E. coli* in calves' feces was confirmed by microbiology counts after their culture in blood agar and Mac conkey agar for 24 hours at 36 °C.

Calves performance was controlled through the measurement of daily dry feed intake and body weight on day 1, 5 and 20 on trial. Diarrhoea intensity was measured daily by fecal score notation done with the following scale: 1 being normal hard feces; 2 firm feces; 3 soft-moist feces; 4 soft amorphous feces and 5 watery-aqueous feces.

A diarrhoea relapse was considered for calves that had diarrhoea intensity over 4 after a period of lower intensity.

The data obtained were analysed using the GLM procedure of S.A.S.

Results

Concerning performance, no differences in body weight gain were measured between the 2 treatments for the overall period.

As can be seen in Figure 1, the average daily dry feed intake was higher in CARB than in ANTIB during the first four days on trial ($P < 0.05$). From day 5 to day 20, no more differences were observed even if there was a numerical increase of the dry feed intake of +13% in the CARB group compared to the ANTIB group.

As can be seen in Figure 2, the mean daily fecal score for the day 1 to 8 period was numerically higher in CARB than in ANTIB calves ($P = 0.20$) indicating a higher diarrhoea intensity in CARB.

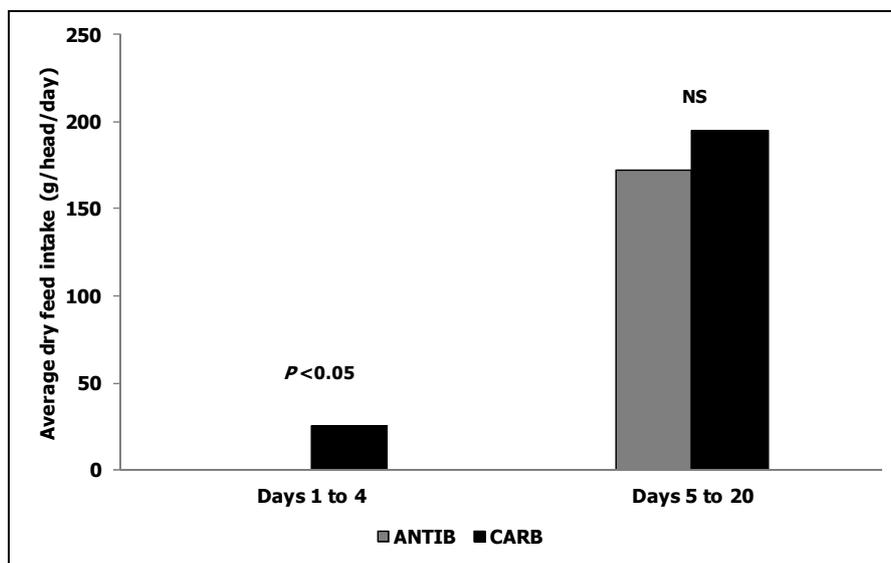


Figure 1: Calves average dry feed intake for days 1 to 4 and days 5 to 20 periods

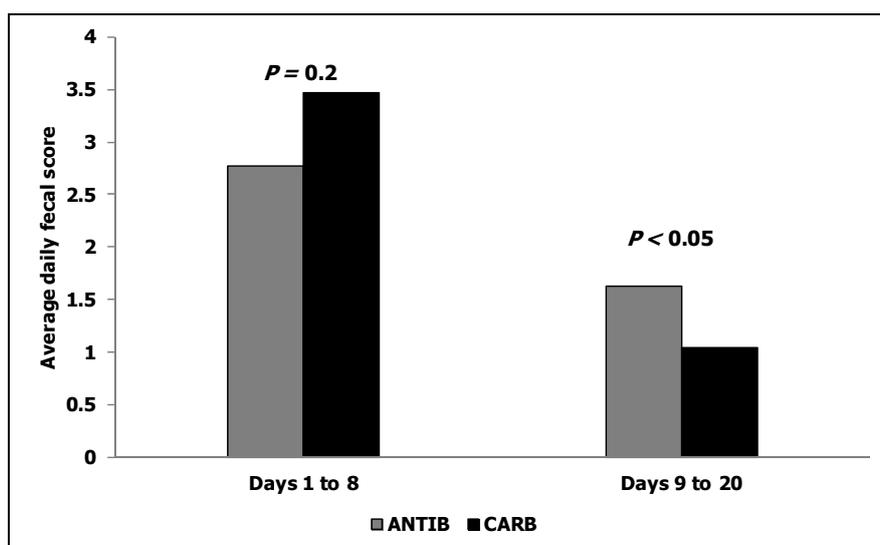


Figure 2: Calves average dry feed intake for days 1 to 4 and days 5 to 20 periods

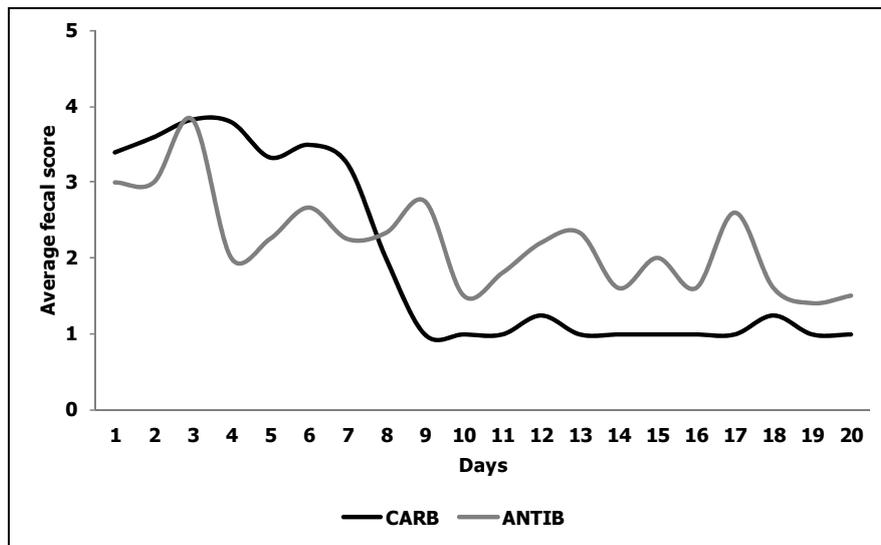


Figure 3: Calves average dry feed intake for days 1 to 4 and days 5 to 20 periods

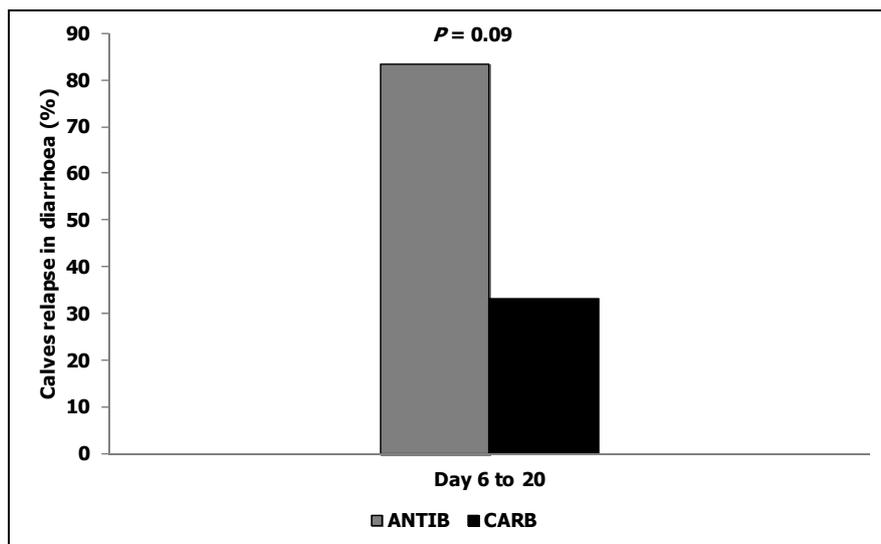


Figure 4: Calves relapse in diarrhoea for day 6 to 20 trial period

For the day 9 to 20 period, the mean daily fecal score was lower in CARB group compared to ANTIB ($P < 0.05$).

The evolution pattern of mean daily fecal scores shown in Figure 3 was different between the 2 treatments. The ANTIB group showed some waves in fecal scoring intensity whereas the calves fed with CARB did not.

As can be seen in Figure 4, the percentage of calves that relapsed in diarrhoea (with fecal score values over 4) after day 6 where higher in ANTIB than in CARB ($P = 0.09$).

Discussion

As indicated by Bünger et al. (1979), diarrhoea cause significant decrease in dry feed intake and that the impact depends on the severity of the disease. As the intensity of diarrhoea during the first trial period tended to be higher in the CARB group compared to the ANTIB group, a lower dry feed intake should have been observed in the CARB group. However, the results obtained in this experiment show that calves fed CARB were able to improve their dry feed intake during the first 4 days of diarrhoea compared to ANTIB calves, counteracting a part of the negative effects of diarrhoea on dry feed intake.

Compared to veterinary traditional treatment, the oral administration of CARB through milk permitted to reduce fecal score intensity of calves subject to an *E. coli* diarrhoea starting from day 8. Daily diarrhoea intensity pattern was different between the 2 groups. These modifications could be related to the modification of shedding patterns between CARB and ANTIB as calves can have been reinfected through their own sheddings. Alali et al. (2004) showed that calves treated orally with oxytetracycline and neomycin showed a higher shedding than the non treated calves from day 6 to 10. In this trial, more calves were subject to new diarrhoea periods in the ANTIB group than in the CARB group after day 6. The relapse decrease observed in the CARB group even after day 6 with a product application at a lower dose indicates that the product could be used in a preventive manner to improve morbidity.

All these results indicate that a non activated charcoal could be beneficial for calves experiencing diarrhoea caused by *Escherichia coli*.

References

- Alali W.Q., Sargeant J.M., Nagaraja T.G. and DeBey B.M., 2004. Effects of antibiotics in milk replacer on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in calves. *J. Anim. Sci.* 82, 2148-2152
- Bünger U., Schmoltdt P., Pongé J., Rotermund H., Motsch T., Brade W. and Kleiner W. (1979). Effect of diseases on the nutrient intake by suckling calves. *Arch. Exp. Veterinarmed.* 33 (3), 347-365
- Knutson H.J., Carr M.A., Branham L.A., Scott C.B. and Callaway T.R. (2006). Effects of activated charcoal on binding *E. coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in sheep. *Small Ruminant Research.* 65, 101-105
- Naka K., Watarai S., Tana, Inoue K., Kodama Y., Oguma K., Yasuda T. and Kodama H. (2001): Adsorption effect of activated charcoal on enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Vet. Med. Sci.* 63 (3), 281-285

Corresponding author

Catherine Ionescu
PANCOSMA
Voie des traz 6
1218 Le Grand-Saconnex, Switzerland
E-mail: catherine.ionescu@pancosma.ch

Einsatz von Migulatoren auf Basis von Natur-Klinoptilolith im Ferkelfutter

Wolfgang Wetscherek und Gabriela Wetscherek-Seipelt

Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Inter-universitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien

Fragestellung

Es wurde die Auswirkung des Einsatzes von IPUSAGRO F 300, einem Natur-Klinoptilolith, im Vergleich zu einer negativen Kontrollgruppe geprüft.

Dabei wurden für den Lebendmassebereich von 10 bis 30 kg folgende Parameter erhoben:

- Futtermittelaufnahme
- Tageszunahmen
- Futtermittelaufwand je kg Zunahme
- Gesundheitszustand
- Ausfälle

Der eingesetzte Natur-Klinoptilolith wurde von der Firma IPUS-Mineral- & Umwelttechnologie GmbH in Rottenmann (Österreich) hergestellt und wird unter der Bezeichnung IPUSAGRO F 300 vertrieben.

Versuchsanstellung

Der Versuch wurde an der LFS-Hatzendorf durchgeführt. Für den Versuch standen Ferkeln von 7 Zuchtsauen aus dem eigenen Betrieb zur Verfügung. Beim Absetzen wurden 48 Ferkel mit etwa 28 Lebenstagen ausgewählt. Bei der Aufteilung auf die beiden Gruppen wurde auf eine gleichmäßige Verteilung von Geschlecht, Wurf und Gewicht geachtet. Der Versuch begann mit etwa 7,5 kg und endete nach 6 Wochen mit einem Lebendgewicht von etwa 27 kg. Während der Versuchsperiode wurden die Tiere in 8 strohlosen Boxen mit Spaltenböden gehalten.

Fütterung

Die Zusammensetzung der Futtermischung der beiden Gruppen unterschied sich nur durch den Zusatz von 2% IPUSAGRO F 300 zur Basismischung der Kontrollgruppe (Tabelle 1). Die damit verbundene Verdünnung der Energie- und Nährstoffgehalte wurde bewusst durchgeführt. Die Umstellung von Absatzfuttermischungen auf die Aufzuchtfuttermischungen erfolgte nach zwei Versuchswochen. Die Zusammensetzung der Futtermischungen wird in den Tabellen 2 und 3 dargestellt.

Datenerhebung

Wägungen: Die Ferkel wurden bei der Einstellung gewogen. Weitere Gewichtsfeststellungen erfolgten im einwöchigen Abstand. Eventuell schlecht wachsende Ferkel wurden gewogen und aus dem Versuch genommen.

Futtererhebung: Die pro Box und Abschnitt gefressenen Futtermengen wurden aufgezeichnet.

Futterverwertung: Die Relation der je Box und Abschnitt aufgenommenen Futtermengen zur Summe der Lebendgewichtszunahmen der Tiere je Box wurde berechnet.

Behandlungen, Ausfälle und Krankheiten: Diese wurden mit Tiernummer, Datum, Gewicht und Ursache festgehalten.

Beurteilung der Durchfallserscheinungen:

- Kein Durchfall
- Leichter Durchfall: In der Box war sehr weicher Kot zu finden. Die Tiere waren nicht verschmutzt und machten keinen kranken Eindruck, sondern waren sehr lebendig und aufgeweckt.
- Mittlerer Durchfall: In der Box war flüssiger Kot zu finden. Die Tiere waren nicht verschmutzt und machten keinen kranken Eindruck, sondern waren lebendig und aufgeweckt.
- Schwerer Durchfall: In der Box war flüssiger Kot zu finden. Die Tiere waren verschmutzt und machten einen kranken Eindruck.

Futteranalysen

Die Futtermischungen wurden jeweils auf Trockenmasse, Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Rohasche, Stärke, Zucker und salzsäureunlöslicher Asche untersucht sowie der Gehalt an Umsetzbarer Energie berechnet.

Auswertung

Die Lebendmasseentwicklung und die Tageszunahmen wurden mit einer zweifachen Varianzanalyse für die fixen Effekte der Gruppe und des Geschlechtes mit dem Statistikpaket SAS berechnet. Als Signifikanzgrenze wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% angenommen.

Tabelle 1: Versuchsplan

Gruppe 1	Gruppe 2
Basismischung	Basismischung mit Zulage von 2 % IPUSAGRO F 300
4 Boxen	4 Boxen
6 Ferkel / Box	6 Ferkel / Box
Box 1; 3; 5; 7	Box 2; 4; 6; 8

Tabelle 2: Zusammensetzung der Ferkelabsetzfuttermischung der Kontrollgruppe

Futtermittel, %	Gruppe 1
Gerste	27,5
Mais	28,5
Weizen	13,0
Weizenkleie	5,0
Sojaextraktionsschrot 44	11,0
Trockenschnitzel	5,0
Rapsöl	1,5
Kartoffeleiweiß	3,5
Dextrose	2,0
Vitamin-, Mineralstoff-Spurenelementprämix	3,0

Tabelle 3: Zusammensetzung der Ferkelaufzuchtfuttermischung der Kontrollgruppe

Futtermittel, %	Gruppe 1
Gerste	30,0
Mais	15,0
Weizen	23,9
Weizenkleie	3,0
Sojaextraktionsschrot 44	22,5
Rapsöl	2,6
Kohlensaurer Futterkalk	1,2
Monocalciumphosphat	0,7
Viehsalz	0,3
Lysin-78	0,4
Methionin-99	0,1
Tryptophan-98	0,01
Treonin-98,5	0,11
Vitamin-, Spurenelementprämix	0,18

Versuchsergebnisse

Analysenergebnisse

Die Ergebnisse der Analysen der Futtermischungen werden in den Tabellen 4 und 5 dargestellt. Erwartungsgemäß wurde durch die Einmischung von 2% IPUSAGRO F 300 der Nährstoffgehalt und der Gehalt an umsetzbarer Energie um etwa 3,3% reduziert und der Gehalt an Asche bzw. salzsäureunlöslicher Asche erhöht.

Zootechnischen Leistungen

Während des Versuches traten keine gesundheitlichen Probleme auf und es wurde kein Auftreten von Durchfall registriert. Für die Auswertung wurde jeweils ein Tier je Gruppe ausgeschieden, weil die Gesamttageszunahmen um mehr als zwei Standardabweichungen von den Mittelwerten abwichen.

Auf Grund des guten Gesundheitsstatus zeigten die Tiere über den gesamten Versuchszeitraum eine sehr gute Lebendmasseentwicklung. Der Versuch begann mit einer durchschnittlichen Lebendmasse von 7,5 kg und endete nach 6 Wochen mit etwa 27 kg.

In der Absatzphase der ersten beiden Versuchswochen bewirkte der Einsatz von 2% IPUSAGRO F 300 eine Verbesserung des Tageszuwachses um 3,6%. Die Futtermittelverwertung war für beide Gruppen identisch und lag bei 1,67 kg.

In der Aufzuchtphase der dritten bis sechsten Versuchswoche bewirkte der Einsatz von 2% IPUSAGRO F 300 eine Verbesserung des Tageszuwachses um 4,8% und eine um 1,3% geringere Futtermittelverwertung.

Über die gesamte Versuchsphase von sechs Wochen ergab sich ein numerisch positiver Effekt in der Größenordnung von 4,6% für die Tageszunahmen.

Tabelle 4: Analysenergebnisse der Ferkelabsetzfuttermischungen

Bezogen auf kg FM	Versuchsgruppe	
	Gruppe 1	Gruppe 2
Trockensubstanz, g	889	893
Rohprotein, g	157	153
Rohfett, g	37	33
Rohfaser, g	39	45
Rohasche, g	44	57
Stärke, g	442	439
Zucker, g	52	49
HCl unl. Asche	4	17
ME, MJ	13,46	13,01

Tabelle 5: Analysenergebnisse der Ferkelaufzuchtfuttermischungen

Bezogen auf kg FM	Versuchsgruppe	
	Gruppe 1	Gruppe 2
Trockensubstanz, g	890	888
Rohprotein, g	178	176
Rohfett, g	44	42
Rohfaser, g	35	36
Rohasche, g	49	62
Stärke, g	430	422
Zucker, g	40	40
HCl unl. Asche	5	17
ME, MJ	13,80	13,48

Tabelle 6: Aufzuchtleistung

Merkmal	Gruppe 1	Gruppe 2	P-Wert	Vergleich zur Kontrolle (= 100) in %
Lebendgewichte, kg				
Anfangsgewicht	7,5	7,5	0,7952	100,90
7. Versuchstag	8,3	8,4	0,7605	100,96
14. Versuchstag	10,4	10,6	0,5477	101,67
21. Versuchstag	13,7	13,9	0,6133	101,44
28. Versuchstag	17,9	17,9	0,9707	100,12
35. Versuchstag	21,4	22,0	0,3303	102,95
42. Versuchstag	26,4	27,4	0,2368	103,59
Tageszunahmen, g				
1.bis 14. Versuchstag	213	220	0,6081	103,62
15. bis 42. Versuchstag	571	599	0,1938	104,83
1. bis 42. Versuchstag	452	473	0,2237	104,64
Futtermittelverbrauch, kg/kg				
1.bis 14. Versuchstag	1,66	1,67		100,52
15.bis 42. Versuchstag	1,72	1,70		98,74
Energieverwertung, MJ ME/kg				
1.bis 14. Versuchstag	22,30	21,67		97,16
15.bis 42. Versuchstag	23,78	22,93		96,45

Zusammenfassung

In einem Ferkelaufzuchtversuch wurde die Auswirkung des Einsatzes von IPUSAGRO F 300, einem natürlichen Alumosilkat im Vergleich zu einer negativen Kontrollgruppe geprüft. Die Dosierung von 2% wurde der Basismischung der negativen Kontrollgruppe zugemischt. Dadurch wurde der Nährstoffgehalt verdünnt und der Energiegehalt um 3,3% reduziert.

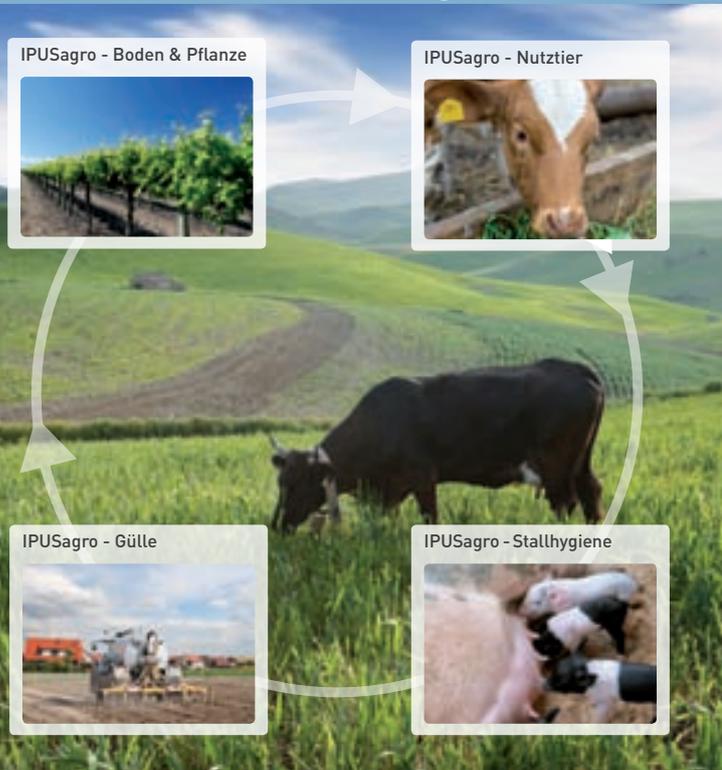
- Es gab in beiden Gruppen keine gesundheitlichen Auffälligkeiten oder Durchfallsprobleme.
- In der Absetzphase (bis 14. Tag nach dem Absetzen) erreichte die Versuchsgruppe um 3,6% höhere Tageszuwächse.
- In der Aufzuchtphase zeigte sich eine Überlegenheit der Versuchsgruppe um 4,8% bei den Tageszunahmen.
- Die Futtermittelverwertung der beiden Gruppen war in der Absetzphase identisch und in der Aufzuchtphase in der Versuchsgruppe nur geringfügig (1%) geringer.
- Berücksichtigt man den geringeren Energiegehalt in den Futtermischungen der Versuchsgruppe ergibt sich in der Absetzphase eine um 2,8% bessere Energieverwertung. In der Aufzuchtphase verbesserte sich die Energieverwertung in der Versuchsgruppe um 3,5%.

Insgesamt kann aus dem Versuch geschlossen werden, dass bis zu 2% IPUSAGRO F 300 in der Ferkelaufzucht eingesetzt werden können, weil keine negativen Einflüsse auf die Futteraufnahme oder Gesundheit festzustellen waren. Zusätzlich waren auch bei sehr guten Gesundheitsstatus Verbesserungen des Tageszuwachses und der Energieverwertung erkennbar.

Autorenanschrift

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

IPUSagro MIGULATOREN – für eine nachhaltige Kreislaufwirtschaft



Die Firma IPUS GmbH ist der führende Spezialist für die vielfältigen Einsatzmöglichkeiten von MIGULATOREN. Das Kerngeschäft des Unternehmens ist die Forschung, Entwicklung und Vermarktung von innovativen Additiven für die Tierernährung und die Effizienzsteigerung von Biogasanlagen.

MIGULATOREN sind mineralische Bioregulatoren. Sie stabilisieren, beschleunigen und regulieren biologische und chemische Prozesse. Damit sind sie in unterschiedlichen Anwendungsbereichen für Leistungssteigerungen und Qualitätsverbesserungen verantwortlich.

Die positiven Eigenschaften von MIGULATOREN werden in der Biogastechnologie, in der industriellen und kommunalen Abwasserreinigung, in der Landwirtschaft sowie in Haus und Garten genutzt.

IPUSagro MIGULATOREN sind mineralische Bioregulatoren, welche die Wirksamkeit vieler Maßnahmen entlang der gesamten Kreislaufwirtschaft Boden – Nutztier – Stallhygiene – Gülle, steigern.

IPUSagro MIGULATOREN – für mehr Vitalität und Mastzunahme sowie für eine bessere Stallhygiene



IPUSagro F – Futtermittelzusatz für Nutztiere

IPUSagro Nutztier MIGULATOREN steigern die Wirksamkeit aller dem Tier zugeführten Nährstoffe und stärken die Vitalität durch Schadstoffbindung und Aktivierung der Kalziumversorgung. Der Futtermittelzusatz dient der Schadstoffbindung, Leistungssteigerung und sorgt für einen trockeneren Kot.

IPUSagro F 300 – Futtermittelzusatz für Schweine

- Gesteigerte Vitalität und Gesundheit
- Deutliche Geruchsreduktion
- Schadstoffbindung
- Höhere Mastzunahme

Weitere Informationen finden Sie im Internet unter www.ipusagro.at

Untersuchungen zur Bewertung verschiedener Betainquellen und zur Stabilität von Vitaminen in Abhängigkeit der Zulage von Cholinchlorid oder verschiedener Betainquellen

Detlef Kampf¹, Sven Mangelinckx^{2*}, Norbert De Kimpe² und Ludo Segers³

¹ Orffa Additives B.V., Werkendam, Niederlande

² Ghent University, Department of Sustainable Organic Chemistry and Technology, Faculty of Bioscience Engineering, Gent, Belgien, * Postdoctoral Fellow of the Research Foundation - Flandern (FWO), Belgien

³ Orffa Belgium N.V., Bornem, Belgien

Einleitung

Betain findet hauptsächlich als Methylgruppen-Donator weite Verwendung als Futterzusatzstoff in der Tierernährung. Es ersetzt hier vordergründig Cholinchlorid, welches im Allgemeinen als hygroskopisch und schwierig zu verarbeiten gilt. In der Vergangenheit wurde Betain ausschließlich aus Zuckerrüben gewonnen, heute sind verschiedene chemische Bindungsformen aus unterschiedlichen Herstellungsverfahren verfügbar. Die biologischen Eigenschaften (Bioaktivität) der unterschiedlichen Herkünfte und Produktionsmethoden werden immer noch kontrovers diskutiert, obwohl zur Wirkung von Betain bereits zahlreiche Veröffentlichungen vorliegen (Eklund *et al.* 2005, Ratriyanto *et al.* 2009). Vor allem werden hierbei die osmoregulatorischen Eigenschaften von chemisch hergestelltem Betainhydrochlorid gegenüber denen der natürlichen Betainquellen aus Zuckerrüben in Frage gestellt. Zum Anderen stehen aber auch Betainmonohydrat und -anhydrat in der Kritik, sehr hygroskopisch zu sein und somit die Stabilität von Futtermitteln negativ zu beeinflussen.

Biologische Wertigkeit verschiedener Betainquellen

Ziel der ersten Untersuchung war es, die biologische Wertigkeit verschiedener Betainquellen (Hydrochlorid, Monohydrat und Anhydrat) zu beurteilen, da diesbezüglich häufig die Frage gestellt wird, ob die osmoregulatorischen Eigenschaften von Betainhydrochlorid ähnlich oder gleichzusetzen sind mit denen von Betainanhydrat. Um diese Frage zu untersuchen, wurde eine *In vitro* Studie durchgeführt, in der insgesamt 4 Proben unter Simulation von Magenbedingungen untersucht wurden (Betainmonohydrat bzw. Betainanhydrat aus Zuckerrübenextraktion (MonoEx bzw. AnhydEx), Betainhydrochlorid bzw. Betainanhydrat aus chemischer Synthese (HydroSyn bzw. AnhydSyn)). Die Proben (je 10 mg) wurden in jeweils 10 ml H₂O gelöst, mit einer 37% HCl-Lösung auf pH 2,3 bzw. pH 4,5 eingestellt und anschließend mittels LC-MS sowie direkter MS analysiert. Die Massenspektrometrie wurde dabei als gut definierte chemische Analyse gewählt, da sie sich vorzüglich zur Gewinnung eines Einblickes in die chemische Struktur eines Moleküls eignet. Die Massenspektren wurden einerseits auf einem Agilent 1100 System mit einer Phenomenex Luna C18 Säule und DAD bestimmt, hierbei wurde die Flussmenge auf 1 ml/min mit 5 mM NH₄OAc-Lösung in Wasser-Acetonitril als mobile Phase eingestellt. Für die direkte MS wurde ein Agilent 1100 System mit direkter Einspritzung verwendet.

Ergebnisse

Bei pH 2,3 wurde Betain im LC-DAD (220 nm) für alle vier Proben nach ca. 2,7 min gemessen. Im positiven Elektrosprayionisationsmodus des Gesamtionenchromatogramms (TIC) zeigten die protonierten Betainmoleküle $[M+H]^+$ bei m/z 118 (m/z Retentionszeit von ca. 2,7 min; Grafik 1) und auch die Cluster bei m/z 235 $[2M+H]^+$ aller vier Proben eine hohe Intensität. Im negativen Elektrosprayionisationsmodus des Gesamtionenchromatogramms (TIC) wiesen die Anionen $[M+Cl]^-$ bei m/z 152/154 hingegen nur eine geringe Intensität auf. Ähnliche Ergebnisse wurden in den direkten MS-Analysen ermittelt (Tabelle 1).

Basierend auf diesen Daten kann geschlussfolgert werden, dass in sauren Lösungen (pH 2,3) gelöstes Betain mittels LC-MS zu vergleichbaren quantitativen Analyseergebnissen führt.

Tabelle 1: Retentionszeiten verschiedener Betainquellen im LC-MS und direkter MS bei pH 2,3

Probe	LC-MS Ret. Zeit min	LC-MS ES, pos. Modus m/z (%)	LC-MS ES, neg. Modus m/z (%)	Direkte MS ES, pos. Modus m/z (%)	Direkte MS ES, neg. Modus m/z (%)
MonoEx	2,69	235 (100) 118 (52)	176 (100) 152/154 (17)	235 (100) 118 (51)	176 (100) 152/154 (95)
AnhydEx	2,69	235 (100) 118 (34)	152/154 (100)	235 (60) 118 (100)	169/171/173/175 (32) 152/154 (100) 120 (59)
HydroSyn	2,70	235 (100) 118 (27)	152/154 (100)	235 (100) 118 (44)	684 (70) 152/154 (100)
AnhydSyn	2,67	235 (100) 118 (24)	299 (58) 176 (36) 152/154 (100)	235 (100) 118 (20)	169/171/173/175 (100)

Bei pH 4,5 zeigte Betain im positiven Elektrosprayionisationsmodus des Gesamtionenchromatogramms (TIC) sowohl für die protonierten Moleküle $[M+H]^+$ bei m/z 118 (m/z Retentionszeit von ca. 2,7 min) als auch für die Cluster bei m/z 235 $[2M+H]^+$ und m/z 257 $[2M+Na]^+$ eine hohe Intensität (siehe Tabelle 2).

Basierend auf diesen Daten kann geschlussfolgert werden, dass in sauren Lösungen (pH 4,5) gelöstes Betain mittels LC-MS ebenfalls zu vergleichbaren quantitativen Analyseergebnissen führt.

Tabelle 2: Retentionszeiten verschiedener Betainquellen im LC-MS bei pH 4,5

Probe	LC-MS Ret. Zeit min	LC-MS ES, pos. Modus m/z (%)
MonoEx	2,66	257 (23), 235 (100), 118 (44)
AnhydEx	2,67	257 (20), 235 (100), 118 (35)
HydroSyn	2,67	257 (24), 235 (100), 118 (38)
AnhydSyn	2,65	257 (40), 235 (100), 118 (51)

Die Ergebnisse zeigen, dass Betainmoleküle nach simulierter Magenpassage (pH 2,3 und pH 4,5) unabhängig von der chemischen Bindungsform und der Herstellungsart (Extraktion aus Zuckerrübe oder chemische Synthese) als identische Moleküle in dissoziierter Form vorliegen (gleiche m/z Retentionszeiten der LC-MS und MS), was damit als Beleg gilt, dass die Bindungsform des Betains und die Form der Herstellung keinen Einfluss auf die biologische Aktivität bzw. osmoregulatorische Funktion hat.

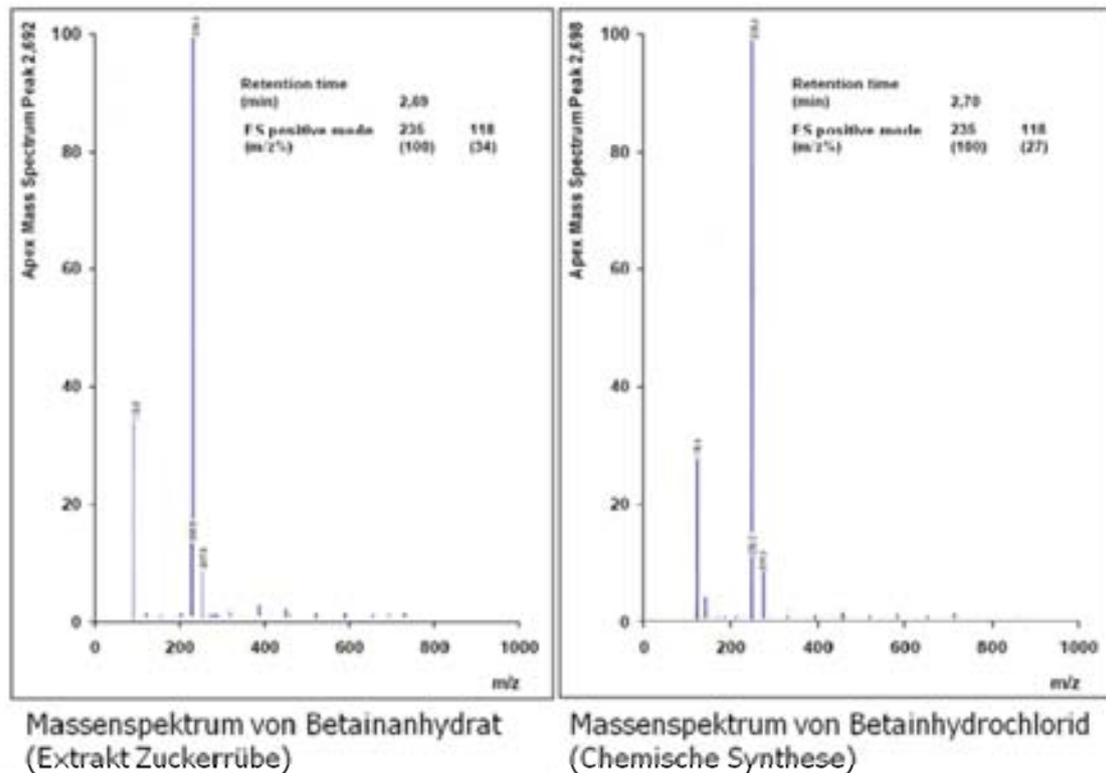


Abbildung 1: LC-MS Analyse von Betainanhydrat und Betainhydrochlorid

Stabilität von Vitaminen in Abhängigkeit der Zulage von Cholinchlorid oder verschiedener Betainquellen

In der zweiten Untersuchung wurden einer Basisvormischung für Ferkel (Dosierung 0,5 % im Mischfutter) Betainhydrochlorid, Betainanhydrat bzw. Cholinchlorid zugelegt und der Einfluss der Lagerung von bis zu 6 Monaten (Messungen nach 0, 0,5, 1, 3 und 6 Monaten) auf die Veränderung des Trockensubstanzgehaltes sowie den Abbau von Vitamin A untersucht (Tabellen 3 und 4). Die untersuchten Produkte waren einerseits Cholinchlorid 60% auf einem organischen Träger mit einem Cholingehalt von 52 %, des weiteren Betainhydrochlorid mit 70,9 % Betain sowie Betainanhydrat mit 93 % Betain.

Tabelle 3: Kalkulierte Gehalte an Cholinchlorid und Betain in den jeweiligen Vormischungen

		Kontrolle	Cholinchlorid	Betain-HCl	Betainanhydrat
Cholinchlorid	mg/kg Premix	0	150.000	0	0
Betain	mg/kg Premix	0	0	125.859*	125.859*

* Gehalte resultieren aus der Berechnung der äquivalenten Konzentration auf Basis der Molekulargewichte von Cholinchlorid (139,6 g/Mol) und Betain (117,2 g/Mol)

Die Auswahl des zu untersuchenden Vitamins erfolgte teils anhand des von Shurson *et al.* (2010) vorgeschlagenen Rankings, andererseits wurde aber auch berücksichtigt, welche Vitamine von Premix-

herstellern kritisch bewertet und welche Vitamine am häufigsten in offiziellen Untersuchungen analysiert werden. Die Analysen der Vitamingehalte im Premix wurden nach dem Standardverfahren für Vitamine in Premixen (Analysenspielraum 5 %) von einem unabhängigen Labor (Oleotest, Lageweg 427, 2660 Antwerpen, Belgien) durchgeführt. Die Messungen zur Hygroskopizität wurden im Labor des Premixerherstellers (Vitamex, Booiebos 5, 9031 Drongen, Belgien) durchgeführt. Die dabei angewandte Methode entsprach der Standardlaboranalyse für die Messung der Hygroskopizität durch Wägung bei kontrollierter Exposition von 80% relativer Luftfeuchte und einer Lagertemperatur von 20 °C bzw. 37 °C bis zum Erreichen eines konstanten Endgewichtes. Hierbei strömte Luft mit 80% relativer Feuchtigkeit durch eine gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung und anschließend durch die zu untersuchende Matrix. Bei konstanter Temperatur von 20 °C bzw. 37 °C wurde das Testmaterial jede zweite Stunde bis zum konstanten Endgewicht gewogen. Die Ergebnisse wurden wie folgt berechnet und dargestellt:

$$= (\% \text{Gewichtszunahme} + \% \text{freies Wasser}) / (100 + \% \text{Gewichtszunahme}) * 100$$

Bestimmung des freien Wassers durch 6-stündige Trocknung bei 87 °C

Bewertungsskala der Ergebnisse:

< 10,0 %	praktisch nichthygroskopisch
10,1 - 15,0 %	gering hygroskopisch
15,1 - 20,0 %	mäßig hygroskopisch
20,1 - 25,0 %	sehr hygroskopisch
> 25,0%	extrem hygroskopisch

Tabelle 4: Zusammensetzung der Basisvormischung

Zusatzstoff	Rohstoff	Premix mg/IU/FTU je kg	Futter mg/IU/FTU je kg
Kupfer	Kupfersulfat Pentahydrat	3.000	15
Eisen	Eisensulfat Monohydrat	24.000	120
Zink	Zinksulfat	20.000	100
Mangan	Manganoxid	16.000	80
Selen	Natriumselenit	70	0,35
Iod	Ca-Iodat	300	1,5
Vit A	Vit A 1000	3.000.000 IU	15.000 IU
Vit D3	Vit D3 500	400.000 IU	2.000 IU
Vit E	Vit E 50% Adsorbat	20.000	100
Vit B1	Vit B1 81%	300	1,5
Vit B2	Vit B2 80%	1153	5,76
Vit B3	Vit B3 98% D-Calpan	3.500	17,50
Vit B6	Vit B6 100%	600	3,0
Vit B12	Vit B12 0,1%	9	0,045
Vit Niacin	Vit Niacin 100%	5.600	28
Vit K3	Vit K3	300	1,5
Phytase	3-Phytase EC3.1.3.8 4 ^a 1600	100.000 FTU	500 FTU
BHT		170	0,85
Ethoxyquin		53	0,27
Propylgallaat		53	0,27
Trägerstoffe: Kalk, Weizenkleie			

Ergebnisse

Die analysierten Gehalte an Cholinchlorid und Betain zeigen, dass in Abhängigkeit der Lagerungszeit von bis zu 3 Monaten von einem Abbau von bis zu 20 % auszugehen ist. Ein Einfluss der Lagertemperatur war hingegen nicht festzustellen. Ein klarer Trend zu Unterschieden in der Stabilität zwischen den einzelnen hier untersuchten Produkten ließ sich aus diesem Untersuchungsansatz ebenso nicht ableiten (Tabelle 5).

Tabelle 5: Stabilität von Cholinchlorid und Betain in Abhängigkeit von Lagerdauer und -temperatur

		Kontrolle	Cholinchlorid	Betain-HCl	Betainanhydrat
kalkuliert	mg/kg Premix	0	150.000 (100)	125.859 (100)	125.859 (100)
t 0	mg/kg Premix	< 1.000	136.000 (91)	118.000 (94)	121.000 (96)
t 1 mon 20 °C	mg/kg Premix		125.000 (83)	114.000 (91)	117.000 (93)
t 1 mon 37 °C	mg/kg Premix		124.000 (83)	98.000 (78)	106.000 (84)
t 3 mon 20 °C	mg/kg Premix		122.000 (81)	97.700 (78)	95.200 (76)
t 3 mon 37 °C	mg/kg Premix		121.000 (81)	102.000 (81)	99.000 (79)

() Werte relativ zum kalkulierten Wert

Die Lagerdauer hatte einen beträchtlichen Einfluss auf den Abbau an Vitamin A in den Vormischungen (Tabelle 6). Dieser lag beispielsweise in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten (20 °C Lagertemperatur) bei ca. 25 %, ebenso wie in den Premixen, die Cholinchlorid oder Betainanhydrat enthielten. Auffallend war die deutlich geringere Abnahme von ca. 10 % im Betainhydrochlorid enthaltenden Premix. Ein Einfluss der Lagertemperatur war hier ebenfalls nur schwer zu erkennen. Lediglich beim Premix, das Cholinchlorid enthielt, konnten nach 3 und 6 Monaten deutlich geringere Gehalte an Vitamin A gegenüber der anderen Versuchsgruppen festgestellt werden.

Tabelle 6: Vitamin A-Stabilität in der Vormischung in Abhängigkeit von Lagerdauer und -temperatur sowie der Zulage an Cholinchlorid und verschiedenen Betainquellen

		Kontrolle	Cholinchlorid	Betain-HCl	Betainanhydrat
kalkuliert	UI/kg* Premix	3.000 (100)	3.000 (100)	3.000 (100)	3.000 (100)
t 0	UI/kg* Premix	3.206 (107)	3.340 (111)	3.275 (109)	3.067 (102)
t 0,5 mon 20 °C	UI/kg* Premix	3.053 (107)	3.005 (100)	3.188 (106)	2.916 (97)
t 1 mon 20 °C	UI/kg* Premix	2.782 (93)	2.901 (97)	3.027 (101)	2.835 (95)
t 3 mon 20 °C	UI/kg* Premix	2.334 (78)	2.491 (83)	3.021 (101)	2.440 (81)
t 6 mon 20 °C	UI/kg* Premix	2.220 (74)	2.263 (75)	2.713 (90)	2.342 (78)
t 0,5 mon 37 °C	UI/kg* Premix	2.839 (95)	2.959 (99)	3.166 (106)	2.778 (93)
t 1 mon 37 °C	UI/kg* Premix	2.761 (92)	2.770 (92)	2.649 (88)	2.457 (82)
t 3 mon 37 °C	UI/kg* Premix	2.330 (78)	1.986 (66)	2.605 (87)	2.395 (80)
t 6 mon 37 °C	UI/kg* Premix	2.316 (77)	1.613 (54)	2.532 (84)	2.382 (80)

() Werte relativ zum kalkulierten Wert

UI/kg* = 1.000 UI/kg

Die einzelnen zugesetzten Zusatzstoffe vor allem aber die Zulage an Cholinchlorid und Betainanhydrat beeinflussten deutlich die hygroskopischen Eigenschaften der jeweiligen Vormischungen (Tabelle 7). Die für diese Additive gemessenen Feuchtigkeitswerte lagen mit ca. 12,0 % weit höher als bei Verwendung von Betainhydrochlorid (7,5 %) oder in der Kontrollgruppe (3,3 %) und zeigen somit das hohe Risiko der negativen hygroskopischen Eigenschaften dieser Produkte auf. Des Weiteren können so zumindest partiell die erhöhten Abbauraten vom Vitamin A bei Verwendung von Cholinchlorid er-

klärt werden, was darauf hindeutet, dass es einen kombinierten negativen Effekt aus Hygroskopizität und Reaktivität zu geben scheint.

Tabelle 7: Wasseraufnahmeverhalten der Vormischungen in Abhängigkeit der Zulage an Cholinchlorid und verschiedener Betainquellen

		Kontrolle	Cholinchlorid	Betain-HCl	Betainanhydrat
Wasseraufnahme	%	3,3	12,01	7,52	11,79

Zusammenfassung

Betain findet weite Verwendung als Futterzusatzstoff in der Tierernährung. Hier wird es vordergründig als Ersatz für Cholinchlorid genutzt, welches im Allgemeinen als hygroskopisch und schwierig zu verarbeiten gilt. Betain ist in verschiedenen chemischen Bindungsformen aus unterschiedlichen Herstellungsverfahren verfügbar, obwohl die biologischen Eigenschaften (Bioaktivität) der einzelnen Herkünfte und Produktionsmethoden bislang noch kontrovers diskutiert werden.

In den hier vorgestellten Untersuchungen konnte belegt werden, dass verschiedene Betainquellen in LC-MS Analysen identische Ergebnisse liefern, woraufhin schlussfolgernd die biologische Aktivität der einzelnen Betainquellen gleichgesetzt werden kann.

In einem weiteren Versuch zur Stabilität von Premixen und dem darin enthaltenen Vitamin A konnte gezeigt werden, dass eine 6 monatige Lagerung (normale Lagertemperatur) mit einem Abbau an Vitamin A von ca. 25 % einhergeht. Einzig im Premix mit Betainhydrochlorid war eine deutlich geringere Abnahme von nur ca. 10 % festzustellen. Ein Einfluss einer erhöhten Lagertemperatur konnte lediglich beim Premix, das Cholinchlorid enthielt, nach 3 und 6 Monaten festgestellt werden.

Hinsichtlich der hygroskopischen Eigenschaften beeinflusste vor allem die Zulage an Cholinchlorid und Betainanhydrat die Stabilität der jeweiligen Vormischungen, die gemessenen Feuchtigkeitswerte lagen mit ca. 12,0 % weit höher als bei Verwendung von Betainhydrochlorid (7,5 %) oder in der negativen Kontrollgruppe (3,3 %).

Literatur

Eklund, M., Bauer, E., Wamatu, J., Mosenthin, R. (2005): Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutrition Research Reviews*, 18, 31-48

Ratriyanto, A., Mosenthin, R., Bauer, E., Eklund, M., (2009): Metabolic, Osmoregulatory and Nutritional Functions of Betaine in Monogastric Animals. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, Vol. 22, No. 10 : 1461-1476

Shurson, G.C., Salzer, T.M., Koehler D.D., Whitney M.H., (2010): Effect of metal specific amino acid complexes and inorganic trace minerals on vitamin stability in premixes. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 163 (2-4), 200-206

Autorenanschrift

Dr. Detlef Kampf
Orffa Additives B.V.
Vierlinghstraat 51
4251 LC Werkendam, Niederlande
E-Mail: kampf@orffa.com

Beta-Key

Betain-Hydrochlorid

-DER Osmoregulator

- nicht hygroskopisch
- stabilere Premixe als mit Betainanhydrat oder Cholinchlorid
- garantiert GMO frei

IntelliBond[®] C

A Product of Micronutrients TBOC

dreibasisches Kupferchlorid

-DIE neue Generation Spurenelemente

- besser als Kupfersulfat
- bioverfügbar wie organisch gebundene Spurenelemente
- keine Komplexbildung → bessere Nährstoffausnutzung

CALSPORIN[®]

Bacillus subtilis C-3102

-DAS Probiotikum im Geflügel- und Ferkelfutter

- Hochkonzentrierte sporenbildende Bakterien
- Hitzestabil auch bei hohen Temperaturen
- Hocheffizient hinsichtlich Leistung und Futterkosten

Orffa (Deutschland) GmbH • Lübecker Straße 29 • D-46485 Wesel • Tel.: +49 281 339 200 • info@orffa.com

Ansprechpartner für
Österreich und Deutschland:
Ursula Bläser
blaeser@orffa.com
+49 160 889 88 13



Ansprechpartner für
Schweiz und Deutschland:
Burkhard Bohr
bohr@orffa.com
+49 171 624 85 29

Your Key to a world of ingredients...



Entwicklung und Validierung einer LC-MS/MS basierenden Analyseverfahren zur Bestimmung von Deoxynivalenol, Deoxynivalenol-3-Glucosid und deren Metaboliten in Urin und Kot von Ratten

Veronika Nagl¹, Heidi Schwartz¹, Rudolf Krska¹, Dieter Moll², Siegfried Knasmüller³, Mathias Ritzmann⁴, Gerhard Adam⁵ und Franz Berthiller¹

¹ Christian Doppler Labor für Mykotoxin-Metabolismus und Analytikzentrum, Dept. IFA-Tulln, Universität für Bodenkultur Wien (BOKU), Tulln, Österreich

² Biomin Research Center, Tulln, Österreich

³ Institut für Krebsforschung, Department der Universitätsklinik für Innere Medizin I, Medizinische Universität Wien, Wien, Österreich

⁴ Klinik für Schweine, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

⁵ Institut für Angewandte Genetik und Zellbiologie (IAGZ), Universität für Bodenkultur Wien (BOKU), Tulln, Österreich

Einleitung

Mykotoxine, sekundäre Metabolite von Schimmelpilzen, weisen eine Vielzahl gesundheitsgefährdender Eigenschaften bei Mensch und Tier auf. Daher existieren in über 100 Ländern Regelungen für Höchstmengen an Mykotoxinen in Lebens- und Futtermitteln (von Egmond et al., 2007). Zu der Gesamtoxinbelastung eines Nahrungsmittels können jedoch nicht nur native Mykotoxine (wie Deoxynivalenol - DON, Zearalenon oder Fumonisine) beitragen, sondern auch die in der Routineanalytik nicht inkludierten maskierten Mykotoxine. Diese werden hauptsächlich in Pflanzen durch Konjugationsreaktionen gebildet oder entstehen während der Lebensmittelherstellung durch chemische Prozesse (zusammengefasst von Berthiller et al., 2009).

Für Pflanzen stellt die enzymatische Konvertierung von DON zu dem polareren Stoffwechselprodukt Deoxynivalenol-3- β -D-Glucosid (D3G) einen Detoxifikationsschritt dar. Das Vorkommen dieses maskierten Mykotoxins konnte bislang in den Futterpflanzen Weizen, Gerste, Hafer und Mais nachgewiesen werden (Berthiller et al., 2005; Lancova et al., 2008; Li et al., 2011). So wurden in Maisproben aus Österreich Konzentrationen an D3G festgestellt, die bis zu 46% der gefundenen (molaren) DON-Konzentrationen entsprachen (Berthiller et al., 2009a). Der Carry-over von D3G in Nahrungsmittel konnte anhand kontaminierter Bierproben bewiesen werden, wobei Konzentrationen von bis zu 37 μ g/L D3G gemessen wurden (Kostelanska et al., 2009).

Die Gefahr der Aufnahme von Nahrungsmitteln, die maskierte Mykotoxine enthalten, besteht in der möglichen Hydrolyse der maskierten Mykotoxine zu deren nativen Formen innerhalb des Verdauungstraktes. Nach Abspaltung der konjugierten Gruppen könnte das native Mykotoxin absorbiert werden, und so zur Gesamtoxinbelastung beitragen. In einer *in-vitro* Studie konnte bereits gezeigt werden, dass bestimmte Milchsäurebakterien die Kapazität besitzen, D3G zu DON zu hydrolysieren (Berthiller et al., 2011). Um das gesundheitsgefährdende Potential von D3G korrekt beurteilen zu können, fehlen jedoch *in-vivo* Daten bezüglich Absorption, Distribution, Metabolismus und Exkretion (ADME) dieses Toxins. Eine Grundvoraussetzung für die Durchführung solcher Studien stellen Analyseverfahren dar,

die spezifisch und sensitiv genug sind, maskierte Mykotoxine und deren Metabolite in unterschiedlichen tierischen Probenmaterialien detektieren zu können.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, eine analytische Methode zur Quantifizierung von D3G, DON, sowie der tierischen DON-Metabolite Deepoxy-Deoxynivalenol (DOM-1) und DON-3-Glucuronid (DON-GlcA) in Urin und Kot von Ratten zu entwickeln und zu validieren. Anhand der Validierungsdaten soll abgeschätzt werden, ob die Analyseverfahren zukünftig in ADME-Studien von D3G eingesetzt werden kann.

Material und Methoden

Proben

Die Urin- und Kotproben stammen von männlichen Sprague Dawley Ratten (ca. 250 g KG), die für eine Dauer von 24 h in metabolischen Käfigen gehalten wurden. Da das eingesetzte Futtermittel Spuren an DON aufwies, wurde den Tieren 12h vor Beginn und während der Sammelperiode das Futter entzogen und so eine Kontamination der Proben mit DON (oder dessen Metaboliten) ausgeschlossen. Die Blank-Proben wurden bis zur Aufarbeitung bei -20°C aufbewahrt.

Probenaufarbeitung

Kotproben: 250 mg Aliquote der gefriergetrockneten Kotproben wurden mit insgesamt 7 mL Methanol/Wasser (50/50, v/v) für insgesamt 100 min auf einem horizontalen Schüttler in drei Schritten extrahiert. Zur Proteinfällung wurden 500 µL Aliquote der vereinigten Extrakte mit 500 µL kaltem Methanol versetzt und zentrifugiert (12500 rpm, 5 min). Abschließend wurden 300 µL Aliquote zur Trockene abgedampft, in 300 µL Methanol/Wasser (20/80, v/v) aufgenommen und in HPLC Vials überführt.

Urinproben: 500 µL Aliquote der Urinproben wurden zentrifugiert (12500 rpm, 10 min), mit 1% Essigsäure versetzt und mittels Festphasenextraktion aufgereinigt. Hierfür wurden Strata[®] C18-T Säulchen (200 mg/3 mL, Phenomenex) mit 5 mL Methanol konditioniert und mit 5 mL Methanol/Wasser/Essigsäure (5/94/1, v/v/v) äquilibriert. Nach dem Probenauftrag wurden die Säulchen mit 1 mL Methanol/Wasser/Essigsäure (5/94/1, v/v/v) gewaschen und die Analyte mit 2 mL Methanol/Wasser/Essigsäure (70/29/1, v/v/v) eluiert. Anschließend wurde das Eluat vollständig abgedampft, in 5 mL Acetonitril/Wasser (10/90, v/v) resuspendiert und 1 mL in HPLC Vials transferiert.

LC-MS/MS

Die Bestimmung von D3G, DON, DOM-1 und DON-GlcA wurde mittels LC-MS/MS, bestehend aus einer HPLC (1100 Serie, Agilent Technologies) und einem 4000 QTrap Massenspektrometer (AB Sciex) mit Turbo V ESI Quelle, durchgeführt. Die chromatografische Auftrennung der Analyte erfolgte mit einer Atlantis[®] T3 Säule (3.0 x 150 mm, 3 µm, Waters), ausgestattet mit einer C₁₈ Vorsäule.

Die Temperatur des Säulenofens betrug 35°C. Als mobile Phase A wurde Wasser/Essigsäure (99.9/0.1, v/v), als mobile Phase B Acetonitril/Essigsäure (99.9/0.1, v/v) eingesetzt. Die Messung startete mit 5% der mobilen Phase B (2 min), deren Anteil nachfolgend in einem linearen Gradienten auf 25% (3 min), 90% (14.8 min) und 96% (15 min) gesteigert wurde. Nach Beibehalten von 96% der mobilen Phase B für 2 min wurde die Säule für 2 min mit 5% der mobilen Phase B re-äquilibriert. Die Flussrate betrug 600 mL/min, das Injektionsvolumen 5 µL. Die Detektion der Analyte erfolgte mittels negativer Elektrospray-Ionisation im Selective Reaction Monitoring Mode. Die verwendeten Massenübergänge und MS/MS Parameter sind in Tabelle 1 angeführt.

Tabelle 1: Massenübergänge und MS/MS Parameter der Analyte D3G, DON, DOM-1 sowie DON-GlcA. Erstgelistet ist stets der Quantifizierer des jeweiligen Analyten, zweitgelistet der Qualifizierer.

Analyt	Vorläufer-Ion (m/z)	Produkt-Ion (m/z)	DP ^a (V)	CE ^b (eV)	t _R ^c (min)
D3G	517.3	427.3	-60	-28	6.13
	517.3	457.3	-60	-18	
DON	355.3	59.1	-40	-30	6.29
	295.3	265.2	-40	-12	
DOM-1	339.3	59.1	-45	-40	6.68
	339.3	249.1	-40	-18	
DON-GlcA	471.3	112.9	-95	-44	6.18
	471.3	265.2	-95	-39	

^a Fragmentorspannung

^b Kollisionsenergie

^c Retentionszeit

Methodenvalidierung und Datenauswertung

Die Validierung der Analyseverfahren erfolgte anhand der Bestimmung der Gesamtwiederfindung (R_A), der Extraktionsausbeute (R_E), der Matrixeffekte (SSE), der Wiederholbarkeit sowie der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (LOD und LOQ) gemäß Sulyok et al. (2007). Hierfür wurden Kotproben vor bzw. nach dem Extraktionsschritt mit den Analyten D3G, DON und DOM-1 in einem Konzentrationsbereich von 1-300 ng/mL (in Messlösung) versetzt. Für die Matrix Urin erfolgte die Validierung zusätzlich für den Analyten DON-GlcA und in einem erweiterten Konzentrationsbereich von 1-500 ng/mL (in Messlösung). Die Aufarbeitung wurde für beide Probenmatrices im Triplikate durchgeführt. Die externen Standards wurden in Methanol/Wasser (20/80, v/v; Kot) bzw. Acetonitril/Wasser (10/90, v/v; Urin) hergestellt und entsprachen in ihren Konzentrationen jenen der versetzten Kot- und Urinproben.

Die Proben wurden mit Analyst[®] Version 1.5.2 (AB Sciex) ausgewertet. Mittels MS Excel 2007 wurden die Werte der Peakflächen gegen die Analytkonzentrationen aufgetragen und so die Regressionsgeraden zur Berechnung der Performance-Charakteristika R_A und SSE erstellt. Der Parameter R_E wurde anhand der Mittelwerte von R_A und SSE berechnet. Die Wiederholbarkeit, ausgedrückt als relative Standardabweichung (RSD), wurde aus den 10 bzw. 9 Konzentrationslevels, die im Triplikate angefertigt wurden, errechnet. Für die Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurde das Signal-Rausch-Verhältnis (S/N-ratio) herangezogen. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen entsprechen jenen Konzentrationen, die ein S/N-ratio von 3:1 bzw. 10:1 aufwiesen.

Ergebnisse und Diskussion

Probenaufarbeitung und LC-MS/MS

Kotproben: Im Rahmen der Methodenentwicklung wurde festgestellt, dass bei einfacher Extraktion der Kotproben lediglich geringe und nicht reproduzierbare Werte für die Extraktionsausbeute erreicht werden konnten. Daher wurde dazu übergegangen, die Extraktion in drei Schritten durchzuführen, wodurch die Extraktionsausbeute und deren Reproduzierbarkeit deutlich gesteigert werden konnten. Neben der Proteinfällung mit Methanol war ferner ein Verdünnungsfaktor von 56 nötig, um die Matrixeffekte auf ein adäquates Maß zu reduzieren.

Urinproben: Die Injektion von unverdünnten Urinproben in das LC-MS/MS System führte zu hochgradigen Matrixinterferenzen. Da eine Verdünnung der Urinproben um einen Faktor 10 nicht ausreichte, um die Matrixeffekte hinreichend zu reduzieren, wurde zusätzlich eine Probenaufreinigung mittels Festphasenextraktion durchgeführt. Durch das Ansäuern der in der Festphasenextraktion eingesetzten Lösungen wurde die Extraktionsausbeute der Analyten optimiert.

Die Verdünnung der Urin- und Kotproben führte zu einer Erhöhung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen. In Anbetracht der in zukünftigen ADME-Studien zu erwartenden Konzentrationen kann aber davon ausgegangen werden, dass die Probenverdünnung insgesamt als vorteilhaft zu bewerten ist.

LC-MS/MS

Die Zusammenstellung der mobilen Phasen war insbesondere für die Retention, Trennung und Signalintensität von D3G und DON-GlcA von Bedeutung. Im Vergleich zu Methanol konnten für diese beiden Analyte durch den Einsatz von Acetonitril als Laufmittel deutlich höhere Signalintensitäten erreicht werden. Der Zusatz von 0.1% Essigsäure resultierte in einer Verbesserung von Retention und Separation der Analyte.

Ein Problem bei der Detektion von Glucuroniden und Glucosiden mittels Elektrospray-Ionisation stellt die mögliche Fragmentierung der Konjugate zu deren Agluconen innerhalb der Ionenquelle dar. Obwohl dies bislang im negativen Modus nicht beobachtet werden konnte (Mess et al., 2011), wurde dennoch eine chromatografische Trennung der Analyte angestrebt. Nach Vorversuchen mit verschiedenen HPLC-Säulen wurde mit einer Atlantis® T3 Säule die beste Separation von D3G, DON, DOM-1 und DON-GlcA erzielt. Somit konnte auch ausgeschlossen werden, dass infolge einer Fragmentierung von D3G oder DON-GlcA die Konzentration an DON inakkurat quantifiziert wird.

Methodenvalidierung

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für D3G, DON und DOM-1 im lyophilisierten Kot entsprachen Konzentrationen von 95, 90, 151 bzw. 482, 202 und 476 ng/g. Im Urin lagen die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für D3G, DON, DOM-1 und DON-GlcA bei 6, 27, 51, 30 bzw. 21, 69, 170 und 137 ng/mL. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in den Messlösungen, sowie die weiteren Validierungsdaten R_A , SSE, R_E sind in Tabelle 2 angeführt. Mit Ausnahme von DON und DOM-1 in der Matrix Urin konnte für alle Analyte eine Gesamtwiederfindung von über 45% erzielt werden. Bei den beiden erwähnten Analyte war eine vergleichsweise große Matrixsuppression von 39 bzw. 27% festzustellen. Für die Extraktionsausbeute konnten Werte im Bereich von 86-108% (Kot) bzw. 81-92% (Urin) bestimmt werden. Die relative Standardabweichung betrug für alle Analyte und Matrices unter 20%.

Tabelle 2: Performancedaten der analytischen Methode für die Matrices Kot und Urin. Nachweis- und Bestimmungsgrenzen sind für die Messlösungen versetzter Urin- bzw. Kotproben angegeben.

Matrix	Analyt	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)	$R_A \pm RSD$	SSE \pm RSD	$R_E \pm RSD$
Kot	D3G	1.7	8.6	56 \pm 15	66 \pm 5	86 \pm 18
	DON	1.6	3.6	77 \pm 6	77 \pm 2	100 \pm 6
	DOM-1	2.7	8.5	69 \pm 2	63 \pm 2	108 \pm 2
Urin	D3G	0.6	2.1	45 \pm 3	56 \pm 10	81 \pm 13
	DON	2.7	6.9	34 \pm 1	39 \pm 5	88 \pm 5
	DOM-1	5.1	17.0	24 \pm 3	27 \pm 9	89 \pm 11
	DON-GlcA	3.0	13.7	89 \pm 4	97 \pm 3	92 \pm 6

Schlussfolgerung

Es konnte eine Probenaufarbeitungs- und LC-MS/MS Methode zur Quantifizierung von D3G, DON, DOM-1, und DON-GlcA in Kot und Urin von Ratten entwickelt werden. Basierend auf den vorliegenden Performancedaten kann davon ausgegangen werden, dass die entwickelte LC-MS/MS Methode sehr gut geeignet ist, um in zukünftigen ADME-Studien von D3G zur Anwendung zu kommen.

Danksagung

Wir danken dem Bundesministerium für Wirtschaft, Familie und Jugend, der Österreichischen Nationalstiftung für Forschung, Technologie und Entwicklung, der BIOMIN Holding GmbH und Nestec Ltd für die Finanzierung des Christian Doppler Labors für Mykotoxin-Metabolismus. Weiters danken wir dem Land NÖ für die finanzielle Unterstützung in der Anschaffung des verwendeten Massenspektrometers. Wir danken Alfred Dutter für die wertvolle Unterstützung in der Tierhaltung sowie dem Sammeln der Urin- und Kotproben.

Literatur

- 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 liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 53, 3421-3425
- Berthiller F., Schuhmacher R., Adam G., and Krska R. (2009): 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. (2009a): Occurrence of deoxynivalenol and its 3- β -D-glucoside in wheat and maize. *Food Addit. Contamin. A* 26, 507-511
- Berthiller F., Krska R., Domig K.J., Kneifel W., Juge N., Schuhmacher R., Adam G. (2011): Hydrolytic fate of deoxynivalenol-3-glucoside during digestion. *Toxicol Lett.* 206, 264-267
- 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
- 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
- Mess J.N., Bérubé E.R., Furtado M., Garofolo F. (2011): A practical approach to reduce interference due to in-source collision-induced dissociation of acylglucuronides in LC-MS/MS. *Bioanalysis.* 15, 1741-1751
- Sulyok M., Krska R., Schuhmacher R. (2007): A liquid chromatography/tandem mass spectrometric multi-mycotoxin method for the quantification of 87 analytes and its application to semi-quantitative screening of moldy food samples. *Anal Bioanal Chem.* 389, 1505-1523
- 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

Autorenanschrift

Mag.med.vet. Veronika Nagl
Christian Doppler Labor für Mykotoxin-Metabolismus
Analytikzentrum
Department IFA-Tulln
Universität für Bodenkultur Wien
Konrad Lorenz Str. 20, A-3430 Tulln
E-Mail: veronika.nagl@boku.ac.at

Effects of deoxynivalenol mycotoxin on growth performance, water consumption, and carcass characteristics of broiler chickens fed low protein diet

Khaled Ghareeb¹, Wageha A. Awad² and Josef Böhm¹

¹ Institute of Animal Nutrition, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna

² Clinic for Avian, Reptile and Fish Medicine, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna

Abstract

Deoxynivalenol (DON) is well-known inhibitors of protein synthesis. However, there is no information regarding the effects of DON in broilers when they fed with biological low protein feeds in practice. Therefore, the present feeding trial was conducted to investigate the effects of deoxynivalenol on performance, water intake, intestinal density and carcass characteristics. A total of 20 broiler chicks (males), one d-old, were obtained from a commercial hatchery and randomly divided into two groups: 1) control group, 2) DON treated group (10 mg/kg). The birds were housed in battery cages for 5 wk. The body weight, body weight gain, and feed intake per bird were measured weekly. Water consumption was measured daily and then calculated for each group weekly. At 5 wk old, the birds were slaughtered and the internal organs including intestinal segments were weighed. The length and weight of small intestines including duodenum, jejunum and ileum were measured. After removal of feathers, head, viscera, and feet, the carcass was weighed. The thigh muscle and breast muscle were also weighed for each bird in both groups. The main adverse effects observed after DON exposure is reduced feed intake during the low-protein grower phase, which resulted in decreased body weight ($P < 0.05$) at 5 wk old. Artificial contamination of the feed with 10 mg/kg of feed-grade DON decreased the BW gain ($P < 0.05$) at 5 wk old and reduced the feed efficiency by increasing the feed conversion rate (FCR; feed to-gain ratio) at 3, 4, and 5 wk. Water consumption (ml/bird) was also decreased ($P < 0.05$) at 4 and 5wk. The length (cm) and weight (g) of small intestine were reduced ($P < 0.05$) and consequently the density (weight in g/length in cm) of the small intestine was decreased ($P < 0.05$) in DON group compared with control group. Furthermore, the weights of thymus, spleen and small intestines were altered due to DON feeding. As a consequence of the adverse effects of DON, the carcass weight, the weights of breast and thighs muscles were decreased ($P < 0.05$) as a result of DON feeding. From this study, it can be concluded that contamination of broiler diet with deoxynivalenol mycotoxin negatively affected the performance of broiler chickens and carcass characteristics. Feeding of biological low protein feeds in a combination with a moderate contamination of DON adversely affect the health, internal organs, intestines and performance of broiler chickens.

Introduction

Deoxynivalenol (DON) is a significant contaminant of food and feed due to its frequent occurrence at toxicologically relevant concentrations worldwide. 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, 1996).

Deoxynivalenol (DON) is the most common trichothecene mycotoxin detected globally in feedstuffs. As a mycotoxin, DON causes losses in livestock production and poses a health problem to livestock and humans consuming contaminated cereal products. All animal species tested have been shown to be susceptible to DON. The mode of toxic action of DON is the inhibition of protein synthesis, thus affecting rapidly dividing cells, such as those of the gastrointestinal tract and immune system. This induces susceptibility to diseases. DON induces an acute and chronic alteration of the epithelial barrier function and nutrient transport in chickens (Awad et al., 2004, 2005a, b, 2007). It seems likely that the morphological changes in the intestine and the decreased feed conversion are linked to an impaired absorption of nutrients.

The effects of feeding *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol on the performance of broilers and laying hens were widely studied (Dänicke et al., 2002, 2003; Swamy et al., 2002; Awad et al., 2004; Chowdhury and Smith, 2004; Swamy et al., 2004; Awad et al., 2006). However, there is a dearth of literature regarding the contribution of low protein content of broiler diet contaminated with DON on performance, water consumption, internal and immune organs, density of small intestines and carcass characteristics of broilers.

Therefore, the present feeding trial was conducted to investigate the effects of Deoxynivalenol mycotoxin in broiler chicken fed low protein feeds on performance, water intake, intestinal density and carcass characteristics of broiler chickens.

Materials and methods

Experimental study design

Twenty 1 d old broilers of a commercial strain were procured from a commercial hatchery. The birds were weighed at the beginning of the experiment, randomly divided into two dietary treatments (10 birds for each treatment). The birds were housed in temperature-controlled batteries during the 5 weeks experimental period. Photoperiod and heating followed standard recommendations. The temperature started at 33°C (from day 0 to day 3) and was gradually reduced (2°C/week) to 25°C for the remainder of the experiment according to normal management practice. 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 at this level until the end of the trial.

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. Chicks were fed the normal protein starter diets (21 %) and the grower low protein diets (13 % protein).

Growth performance traits

On day 1, individual weight of all chicks was recorded, afterward weekly body weight was taken and initial body weight was subtracted to get body weight (WB) gain on weekly basis. A weighed quantity of feed was offered *ad libitum*. Daily residual feed in feeders was recorded as refusal and adjusted accordingly to get daily feed consumption for the whole course of the experiment for each treatment. Consequently feed conversion rates (FCR) were calculated.

Weight of organs

At the end of experiment, after weighing, 10 birds per treatment were randomly selected and killed by cervical dislocation. The proventriculus, gizzard, heart, liver, pancreas, spleen, thymus, bursa of Fabricius, small intestine (duodenum, jejunum, and ileum), cecum, and colon were excised and weighed. The relative organ weight was subsequently calculated based on the body weight of the bird at slaughter and multiplied by 100 to get the percentage of organ weight relative to body weight.

Small intestine and carcass variables

The small intestine was weighed after removal of the content and the length was also taken. The intestinal density (weight in g/ length in cm) was subsequently calculated. Afterward, the birds were scalded, de-feathered, and carcasses were eviscerated. The head, neck, and feet were removed, and the carcass subsequently was ready to cook (RTC). The thigh muscle and breast muscle were also weighed for each bird in both groups.

Statistics

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. T-Test for independent samples was performed between the two groups to find the significance between dietary treatments. The probability values of 0.05 ($p \leq 0.05$) were considered significant.

Results

Growth performance and water intake

The body weight of broiler chicks at d 1 did not differ significantly ($P > 0.05$) between control and DON fed groups (Table 1). However, the body weight of DON group was significantly decreased ($P < 0.05$) at 35 d compared to controls (Table 1). Moreover, the average body gain and the daily body gain was significantly decreased ($P < 0.05$) due to DON feeding (Table 1).

Table 1: The effect of deoxynivalenol on body weight (g) and body weight gain (g) of broiler chickens

Item	Control group	DON group
Body weight at d 1	49±3.72	51±2
Body weight at d 35	1153±63	969*±30
Body gain	1104±63	946*±29
Daily body gain	32±2	27* ±1

*Asterisks mark significant differences (t-test for independent samples, $P < 0.05$). Data are given as means ± standard errors of the means (SEM).

Furthermore, the main adverse effects observed after DON exposure is reduced feed intake ($P < 0.05$) during grower phase (3, 4 and 5 wk, Table 2), which resulted in reduced feed efficiency by increasing the feed conversion rate (FCR; feed to-gain ratio) at 3, 4, and 5 wk. Water consumption (ml/bird) was also decreased ($P < 0.05$) at 3, 4 and 5 wk due to feeding of DON (Table 2).

Table 2: The effect of deoxynivalenol on water intake (ml), feed intake (g), and feed efficiency (feed conversion rate, FCR) of broiler chickens

Age (week)	Control group	DON group
W 1		
Water intake	575±60	457±50
Feed intake	277 ± 48	253±50
FCR	1.37	1.50
W2		
Water intake	1128±98	900±71
Feed intake	488 ± 22	415±21
FCR	1.45	1.53
W3		
Water intake	1107±44	907*±65
Feed intake	641±23	520*±22
FCR	2.90	3.01
W4		
Water intake	1412 ±49	1220*±61
Feed intake	757 ±25	645*±27
FCR	2.97	3.38
W5		
Water intake	1621±126	1242*±78
Feed intake	871 ±30	654* ±29
FCR	1.76	2.37

*Asterisks mark significant differences (t-test for independent samples, $P < 0.05$). Data are given as means ± standard errors of the means (SEM).

Small intestine and carcass weights

The length (cm) and weight (g) of small intestine were reduced ($P < 0.05$) and consequently the density (weight in g/length in cm) of the small intestine was decreased ($P < 0.05$) in DON group compared with control group (Table 3). Furthermore, the carcass weight, the weights of breast and thighs muscles were decreased ($P < 0.05$) as a result of DON feeding (Table 3).

Table 3: The effects of deoxynivalenol on the small intestine and carcass characteristics of broiler chickens

Item	Control group	DON group
<u>Small intestine</u>		
Absolute weight	51.1±4.4	42.9*±4.2
Relative weight (%)	4.2±0.3	4.3±0.3
Length	134±3.9	130±3.8
Density (g/ cm)	0.38±0.02	0.33*±0.03
<u>Carcass</u>		
Carcass weight	609±22	510*±18
Breast weight	226±14	169*±5
Thighs weight	243±14	197*±13

*Asterisks mark significant differences (t-test for independent samples, $P < 0.05$). Data are given as means ± standard errors of the means (SEM).

Internal and immune organs

The weights of proventriculus, gizzard, thymus, spleen and heart were significantly decreased ($P < 0.05$) after DON feeding (Table 4). Moreover, the weight of pancreas, liver, and caecum were also decreased but the difference did not reach to significance (Table 4).

The immune organs were also altered by DON feeding (Table 4). The weight of thymus and spleen were significantly decreased ($P < 0.05$) after DON feeding (Table 4). Moreover, weight of Bursa was also decreased but the difference did not reach to significance (Table 4). The relative weights of thymus, kidney, proventriculus, and pancreas are significantly decreased ($P < 0.05$) after 5 weeks of DON exposure. However, the relative weights of heart, bursa, gizzard, spleen, colon and caecum remained unaffected.

Table 4: The effect of deoxynivalenol on the absolute weights (g) and relative weights (%) of organs of broiler chickens

Organ	Control group	DON group
<u>Absolute weight</u>		
Proventriculus	5.8±0.4	5.5*±0.3
Gizzard	26.6±1.4	20.4*±0.9
Pancreas	2.75±0.3	2.75±0.3
Heart	7.8±0.5	6.3*±0.3
Thymus	5.6±0.7	3.6* ±0.5
Bursa	3.3±0.5	2.8±0.2
Spleen	1.4±0.7	1.0*±0.0
Liver	27.3±2.7	23.0±1.7
Kidney	7.0±0.5	6.5±0.4
Caecum	5.5±0.7	4.9±0.4
Colon	2.1±0.2	2.5±0.7
<u>Relative weight (%)</u>		
Proventriculus	0.47±0.02	0.55*±0.02
Gizzard	2.23±0.12	2.05±0.07
Pancreas	0.23±0.02	0.28*±0.03
Heart	0.64±0.03	0.63±0.04
Thymus	0.47±0.05	0.37*±0.05
Bursa	0.28±0.05	0.28±0.02
Spleen	0.17±0.06	0.10±0.01
Liver	2.25±0.19	2.29±0.12
Kidney	0.58±0.03	0.65*±0.03
Caecum	0.45±0.14	0.49±0.11
Colon	0.18±0.02	0.29±0.07

*Asterisks mark significant differences (t-test for independent samples, $P < 0.05$). Data are given as means ± standard errors of the means (SEM).

Discussion

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 (Placinta et al., 1999; Binder et al., 2007; Griessler et al., 2010). *Fusarium* mycotoxins are likely the most economically significant grain mycotoxins globally (Placinta et al., 1999).

Among all mycotoxins, those from *Fusarium* species are considered to be important contaminants of poultry feed. There are many published data on the effects of feeding *Fusarium* mycotoxin DON on the performance of broilers and laying hens (Dänicke et al., 2002, 2003; Swamy et al., 2002; Awad et al., 2004; Chowdhury and Smith, 2004; Swamy et al., 2004; Awad et al., 2006). However, there is a dearth of literature regarding the effects of DON on carcass yield and intestinal density. Moreover, the studies of contribution of lower protein content of the contaminated diets toward performance of broilers are still limited.

The current study showed that the relative weights of thymus, kidney, proventriculus, and pancreas are significantly decreased ($P < 0.05$) after 5 weeks of DON exposure. It was shown that the toxic effects of *Fusarium* mycotoxins in animals and poultry include reduced growth, feed refusal and vomiting, immunosuppression, gastrointestinal lesions, and neurological and reproductive disorders (Rocha et al., 2005). The mode of toxic action of DON is the inhibition of protein synthesis, thus affecting rapidly dividing cells, such as those of the gastrointestinal tract and immune system which induces susceptibility to diseases.

The present experiment showed that low protein content of DON contaminated diet altered not only the performance of broiler but also affected the carcass yield and intestinal variables. DON decreased the length and weight of the small intestines in broiler chickens ($P < 0.05$). In addition the weight (g) / length (cm) was reduced after 35 d of DON exposure. Similarly, Yunus et al. (2011) demonstrated that 4 wk of AFB1 exposure resulted in lower unit weight of the duodenum and jejunum compared with the control. However, the lengths of these segments were increased (Yunus et al. 2011). Relative unit weight of the whole intestine has previously been reported to decrease with AFB1 contamination of broiler diets at the levels of 0.02 mg/kg (Kana et al., 2010). The diet-induced changes in unit weight of intestinal tissues have been taken previously as an indirect indicator of absorptive surface (Palo et al., 1995; Kana et al., 2010). The DON-induced decrease in the weight and dense of small intestines in the present experiment may thus indicate decreased absorptive surface. It was shown that DON altered the electrophysiological and morphological variables of small intestines (Girgis et al. 2010, Awad et al. 2004, Awad et al. 2005, Awad et al. 2006). The typical morphological modifications in the small intestine during chronic dietary exposure to the low levels of DON include, besides others, decrease in villus height and area (Awad et al., 2006; Girgis et al., 2010). These morphological alterations are accompanied with reduced electrophysiological properties, which in turn result in low absorption of glucose in the small intestine (Awad et al., 2004). These changes in the small intestines could be the reason behind the reduced body weight and body weight gain at the end of the experiment. As well as the reduced feed and water intake in present study in a contribution with low protein content of the grower diet resulted in decreased feed efficiency and body gain.

As a consequence of the reduced body weight and performance traits of broilers in the present experiment, the carcass weight (RTC) was reduced to DON exposure. Furthermore, weight of thighs and breast muscles were also decreased after 35 d from DON exposure. For our knowledge, this is the first report about the effects of DON on the carcass variables.

In conclusion, the toxicity of DON might be adversely affected the health and performance of broiler chickens with the contribution of low protein content of the diet. DON affected the performance, internal organs, and intestinal variables. As a result of the effect of DON on the whole body, the carcass variables are altered by DON exposure.

References

- Awad, W. A., J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli, H. W. Hulan, and J. Zentek. 2004. Effects of deoxynivalenol on general performance and electrophysiological properties of intestinal mucosa of broiler chickens. *Poult. Sci.* 83:1964-1972

- Awad, W. A., J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli, K. Ghareeb, and J. Zentek. 2006. Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. *Poult. Sci.* 85:974-979
- Awad, W.A., H. Rehman, J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli and J. Zentek, 2005b. Effects of luminal deoxynivalenol the jejunums of laying hens. *Poult. Sci.*, 84:928-932
- Awad, W.A., J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli and J. Zentek, 2005a. In vitro effects of deoxynivalenol on electrical properties of intestinal mucosa of laying hens. *Poult. Sci.*, 84: 921-927
- Awad, W.A., J.R. Aschenbach, F.M.C.S. Setyabudi, E. Razzazi-Fazeli, J. Böhm and J. Zentek, 2007. In vitro effects of deoxynivalenol on small intestinal Dglucose uptake and absorption of deoxynivalenol across the isolated jejunal epithelium of laying hens. *Poult. Sci.*, 86: 15-20
- Binder E. M., L. M. Tan, L. J. Chin, J. Handl, and J. Richard. 2007. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities feeds and feed ingredients. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137:265-282
- 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., K. H. Ueberschär, I. Halle, S. Matthes, 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. Ueberschär, S. Döll, and H. Valenta. 2003. Effects of graded levels of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and of a detoxifying agent in broiler diets on performance, nutrient digestibility and blood chemical parameters. *Br. Poult. Sci.* 44:113-126
- Girgis, G. N., J. R. Barta, M. Brash, and T. K. Smith. 2010. Morphological changes in the intestine of broiler breeder pullets fed diets naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins with or without coccidial challenge. *Avian Dis.* 54:67-73
- Griessler, K., I. Rodrigues, J. Handl, and U. Hofstetter. 2010. Occurrence of mycotoxins in Southern Europe. *World Mycotoxin Journal* 3 (3), 301-309
- Grove, J. F. 2000. Non-macrocytic trichothecenes, Part 2. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* 69:1-70
- Kana, J. R., A. Tegui, and J. Tchoumboue. 2010. Effect of dietary plant charcoal from *Canarium schweinfurthii* Engl. and maize cob on aflatoxin B1 toxicosis in broiler chickens. *Livest. Res. Rural Dev.* 22. Accessed Jun. 2011. <http://www.lrrd.org/lrrd22/4/kana22077.htm>
- Palo, P. E., J. L. Sell, F. J. Piquer, M. F. Soto-Salanova, and L. Vilaseca. 1995. Effect of early nutrient restriction on broiler chickens. 1. Performance and development of gastrointestinal tract. *Poult. Sci.* 74:88-101
- Placinta, C. M., J. P. F. D´Mello, and A. M. C. Macdonald. 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feeds with *Fusarium* mycotoxins. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 78:21-37
- Rocha, O., K. Ansari, and F. M. Doohan. 2005. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells; a review. *Food Addit. Contam.* 22:369-378
- Rotter, B. A. 1996. Invited Review: Toxicology Of Deoxynivalenol (Vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health A* 48:1-34
- 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. Seftons. 2002. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on production and metabolism in broilers. *J. Toxicol. Environ. Health* 81:966-975
- Yunus, A, W., K. Ghareeb, A. A. M. Abd-El-Fattah, M. Twaruzek, and J. Böhm. 2011. Gross intestinal adaptations in relation to broiler performance during chronic aflatoxin exposure. *Poult. Sci.* 90:1683-1689

Corresponding author

Dr. Khaled Ghareeb
University of Veterinary Medicine Vienna (Vetmeduni)
Department for Farm Animals and Veterinary Public Health
Institute of Animal Nutrition
Veterinärplatz 1
A-1210 Vienna, Austria

Fusarium toxin deoxynivalenol impairs Na⁺-dependent glucose absorption in chicken jejunal brush-border membrane

Wageha A. Awad¹, Khaled Ghareeb², Josef Böhm², Michael Hess¹ and Jürgen Zentek³

¹ Clinic for Avian, Reptile and Fish Medicine, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

² Institute of Animal Nutrition, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

³ Institute of Animal Nutrition, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany

Abstract

Nutrient uptake in the small intestine is mediated by transporter proteins that bind and relocate nutrients from the lumen to the inside of the cell across the brush border membrane. The regulation of nutrient transporters has become a hot area of research due to the potential to reduce by improving uptake capacity by some mycotoxins. Therefore, the objective of the present experiment was to determine the influence of dietary inclusion of different concentrations of deoxynivalenol on the relative abundance of SGLT-1 protein in brush border membrane vesicle (BBMV) of jejunal mucosa of broilers. A total of 45 broiler chicks (males), one d-old, was obtained from a commercial hatchery and randomly divided into three groups (15 birds/group): 1) control group, 2) DON treated group (1mg/kg) and 3) DON treated group (5mg/kg). The birds were housed in wire-bottomed pens for the 35 day experimental period. Immediately after slaughtering, jejunum (from the end of the duodenal loop to Meckel's diverticulum) was removed and immediately washed with ice-cold saline (0.9% NaCl) and immediately frozen in liquid N₂ and stored at -80°C. The measurements of sodium-glucose transporter 1 (SGLT-1) protein abundance in BBMV of chicken small intestine were done as previously described by (Garriga et al., 1999) with some modification. A single 75-kDa band was detected and the relative abundance of SGLT-1 protein measured by optical densitometry. In the final BBMV preparation, the sucrase activity was highly enriched in all groups (over the original homogenate), whereas the enrichment of the Na⁺-K⁺-ATPase did not increase. To compare mRNA abundance of SGLT-1 with expression of the SGLT-1 protein, western blots were performed on brush border membrane vesicles with an anti-chicken SGLT-1 antibody. In all groups, the antibody recognized an immunoreactive protein of 75 kDa. At 5 wk, the relative abundance of SGLT-1 was 20 % lower in both DON treated groups at both concentrations compared with the control chickens. From the present study, we can conclude that DON contaminated diet suppresses the SGLT-1 abundance and activity of intestinal glucose transporters in chicken intestine under practically relevant feeding conditions. These results support the view that DON has indeed a specific inhibitory effect on glucose transport.

Introduction

Deoxynivalenol (DON) is the most common trichothecene mycotoxin detected globally in feedstuffs. As a mycotoxin, DON causes losses in livestock production and poses a health problem to livestock and humans consuming contaminated cereal products. All animal species tested have been shown to be susceptible to DON. The mode of toxic action of DON is the inhibition of protein synthesis, thus

affecting rapidly dividing cells, such as those of the gastrointestinal tract and immune system. This induces susceptibility to diseases. DON induces an acute and chronic alteration of the epithelial barrier function and nutrient transport in chickens (Awad et al., 2004, 2005a, b, 2007). It seems likely that the morphological changes in the intestine and the decreased feed conversion are linked to an impaired absorption of nutrients (Awad et al., 2006).

The digestive tract is a target for the mycotoxin deoxynivalenol (DON). It is a major cereals grain contaminant of public health concern in Europe and worldwide and causes various toxicological effects. As the injury of the gastrointestinal tract is an important aspect of DON toxicity (Leeson et al., 1995), it is thus of great importance to characterize the effect of this mycotoxin on nutrient absorption in animals.

The full effects of *Fusarium* mycotoxins are still not known and up to now the biological mode of action of the inhibition of transport processes is not clear. It may be related to reduce protein synthesis by binding to the 60S subunit of eukaryotic ribosomes and impairment of the function of the peptidyl transferase (Feinberg and McLaughlin, 1989), or to the decrease in nutrient and energy availability at the cellular level. Therefore, the mode of action of *Fusarium* toxins in chickens need further research for being better understood. Consequently the presented work can be viewed as providing a contribution for the understanding of the mode of action of DON in the gastrointestinal tract.

In our previous experiments, the obtained results clearly show that the electrogenic transport of glucose and glutamine and SGLT-1 gene expression is reduced by DON. Therefore, the objectives of our studies were to characterize, if the decreased nutrient absorption is due to specific effects on the intestinal SGLT-1 protein abundance in BBMV using western blots.

Materials and methods

Experimental study design

A total of 45 broiler chicks (males), one d-old, will be obtained from a commercial hatchery (Cobb Germany Avimex GmbH), were randomly divided into three groups (15 birds/group). The birds were housed in wire-bottomed pens for the 35 day experimental period. Details of the study design are shown in Table (1).

Table 1: Study design

Treatment		Control	DON-1	DON-5
Animal Number	n	15	15	15
Replicates	n	5	5	5
DON	mg/kg	0	1	5

The temperature was kept at 33 °C (from day 0 to day 3) and was gradually reduced (2-3 °C/week) until 23 °C was reached. A lighting program was applied as following 24 hrs at the first three days, 23 hrs at the next four days, and the chicks were maintained on an 18 hours constant light schedule until the end of the experiment.

Diets

A basal diet will be formulated based on wheat, soybean meal, maize, rapeseed oil, and a premix with vitamins, minerals, amino acids, salt, and Mono -calcium phosphate. Nutrient concentrations will be

formulated to meet or exceed minimum requirements for broilers according to the National Research Council (1994) and Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE, 1999). For the experimental groups, DON will be added to the basal diet at a concentration of 1, 5 mg DON/kg diet. The diet for the control birds will be the basal diet without addition of DON. Feed and water were provided *ad libitum*. Representative feed samples (2 x 250 g) from each diet were collected, labelled and identified. Samples were analysed for nutritional composition and for the content of the *Fusarium* mycotoxins. Deoxynivalenol and the other trichothecenes (3-acetyl-deoxynivalenol (3-AcDON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-AcDON), fusarenon x, and nivalenol) were determined in the diets by HPLC.

BBMVs preparation

Immediately after slaughtering, jejunum (from the end of the duodenal loop to Meckel's diverticulum) was removed and immediately washed with ice-cold saline (0.9% NaCl) and immediately frozen in liquid N₂ and stored at -80°C. The measurements of sodium-glucose transporter 1 (SGLT1) protein abundance in BBMVs of chicken small intestine were done as previously described by (Garriga et al., 1999) with some modification.

Briefly, the mucosa was scraped off with a cell scraping tool and placed in 250 ml of ice-cold mannitol/Tris buffer (300 mM mannitol, 5 mM EGTA, 2 mM Tris/HCl, pH 7.1). The tissue was homogenized in a mixer for 2 times for 30 sec. Three ml of this suspension were collected and used for protein and enzymes activity estimation. MgCl₂ were added to the suspension to a final concentration of 10 mM. After stirring the solution on ice for 20 min the solution was centrifuged at 3000 x g for 15 min to remove debris.

The supernatant was further centrifuged at 26750 x g for 30 min and the pellet homogenized in a second mannitol/Tris buffer (60 mM mannitol, 5 mM EGTA, 12 mM Tris/HCl, pH 7.1) with a glass/teflon homogenizer before further addition of MgCl₂ for 20 min. After stirring on ice the centrifugation was repeated three times at 3000 x g for 25 min until no debris can be seen, and the supernatant was further centrifuged at 46000 x g. The pellet was then homogenized in a vesicle buffer (280 mM mannitol, 20 mM Tris, 20 mM Hepes, pH 7.4) with a glass/teflon homogenizer and the centrifugation was repeated at 48000 x g for 30 min. The final pellet containing purified brush border membrane vesicles was resuspended in 200 µl vesicle buffer. The suspension was homogenized by passing it through a 25-gauge needle 10 times. The resulting suspension was aliquoted and stored at -80 °C. Protein concentrations were determined using the Coomassie Brilliant Blue protein assay with bovine serum albumin as a standard (Bradford, 1976).

Sucrase Activity Assays

Sucrase activity was used as a marker for enrichment of brushborder membrane (Schmitz, et al., 1973). The brushborder membrane enrichment factor was calculated as a ratio of the sucrase activity per mg protein in the brushborder membrane fraction divided by the sucrase activity per mg protein in the whole intestinal homogenates. Sucrase activity was assayed as previously described by Gnoth (2000).

Na⁺-K⁺-ATPase Activity

The potential presence of any basolateral membranes was determined by assessing the activities of the following marker enzymes; K⁺-activated phosphatase (basolateral membrane) as described previously (Nguyen, 1999).

Western blotting

The SDS-PAGE was done with the mini Protean Tetra Cell (BioRad). The BBMV - Lysates will be diluted (20 µg in 10 µl vesicle puffer) and solubilized by boiling at 95°C for 10 min in the presence of SDS and β-mercaptoethanol, 1x Roti-Load 1 (Roti-Load 1 4x reduced by Carl Roth). 20 µg of every BBMV-lysate will be subjected to SDS-PAGE with a 4 % stacking gel and a 7.5 % running gel.

A pre-stained molecular weight standard was loaded in the first lane of each gel (Fermentas PageRuler Prestained Protein Ladder). The samples from each group were randomly assigned to a gel. Gels were run at 50 V for 15 min to concentrate them in the stacking gel and then they were run at 150 V for 1h. After the SDS-PAGE the gels were washed in ddH₂O and equilibrated for 15 min in cold transfer buffer (0.03 M Tris, 0.192 M glycine, 20 % methanol).

Immun-blot PVDF membranes (GE Healthcare) were pre-wetted in methanol, washed two times in ddH₂O and placed in cold transfer buffer for 10 min prior to transfer. Transfer sandwiches were set up for a semi-dry transfer. Transfers were performed at 0.8 mA per square cm of membrane for 50 min at constant voltage of 150 mA using a Trans-Blot apparatus (GE Healthcare). After the Blot the membranes were washed in PBS-T 0.1 % Tween and in ddH₂O and were dried. The membranes were pre-wetted in methanol, washed for two times in ddH₂O and in PBS-T. Then they were blocked in ECL advance blocking agent 2% in PBS-T for 3 h at room temperature with gentle agitation. After the blocking procedure the membranes were washed two times with PBS-T.

Blots were incubated overnight at 4 C with a rabbit polyclonal antibody (Acris Antibodies GmbH) raised against a synthetic peptide corresponding to amino acids 564 to 575 of the deduced amino acid sequence of rabbit intestinal SGLT1 (Hediger et al., 1987) diluted to 1:1,000 in 1% BSA PBS-T. The membranes will be washed (3 × 15 min) with PBS-T. The further detection was proceeded as suggested by the manufacturer (Opti-4CN Substrate Kit (BioRad 170-8236)). The secondary antibody (Goat-anti-rabbit IgG), diluted 1:5000 in 1% BSA PBS-T was incubated with the membranes for 1h at room temperature with gentle agitation. The membranes will be washed (3 × 15 min) with PBS-T. The amplification, incubation with Streptavidin-HRP and colorimetric detection was proceeded as described in the manual. The detected membranes were dried and imaged using a Decon-DC imaging system with an exposure time of 20 sec. Bands were quantified by densitometric analysis using Quantity Gelscan version 5.1 software (BioSciTec GmbH).

Statistics

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. One way-ANOVA was performed followed by Duncan's test to find the significance between dietary treatments. The probability values of 0.05 ($p \leq 0.05$) were considered significant.

Results

Characterization of BBMV

In the final BBMV preparation, the sucrase activity was highly enriched in all groups (over the original homogenate), whereas the enrichment of the Na⁺-K⁺- ATPase did not increase (Table 2).

Immunoblotting

To compare mRNA abundance of SGLT-1 with expression of the SGLT-1 protein, western blots were performed on brush border membrane vesicles with an anti-chicken SGLT-1 antibody. In all groups,

the antibody recognized an immunoreactive protein of 72 kDa. At 5 wk, the relative abundance of SGLT-1 was 20 % lower in both DON treated groups compared with the control chickens (Figure 1, 2).

Western blot analysis of SGLT-1 in jejunal brush-border membrane vesicles (BBMV) from 5-wk-old chickens (5W). BBMV were incubated with the corresponding antigenic peptide. A single 75-kDa band was detected and the relative abundance of SGLT-1 protein measured by optical densitometry. Results are means of 3 different experiments.

Table 2: Enzyme Activity in BBMVs of jejunal mucosa of broiler chickens

Group		Control	DON-1	DON-5
Number of Animals	n	7	7	6
DON	mg/kg	0	5	10
Sucrase Activity	fold	12 ± 5.95	7 ± 0.86	13 ± 4.32
Enrichment factor Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	fold	2 ± 0.34	3 ± 0.73	1 ± 0.29

* The enrichment factor is calculated as the ratio of specific activity of the vesicles to that of the homogenate. The values are expressed as the mean ± SE.

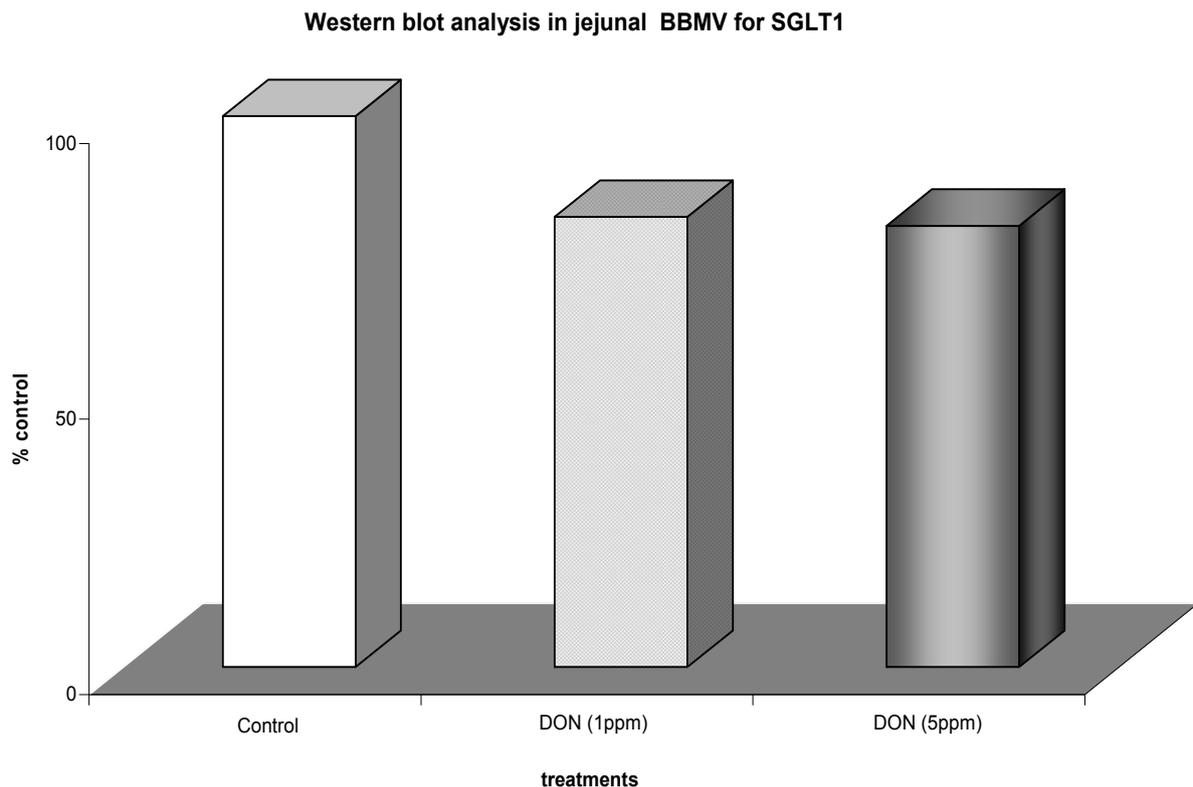


Figure 1: Relative abundance of SGLT-1 protein measured by optical densitometry

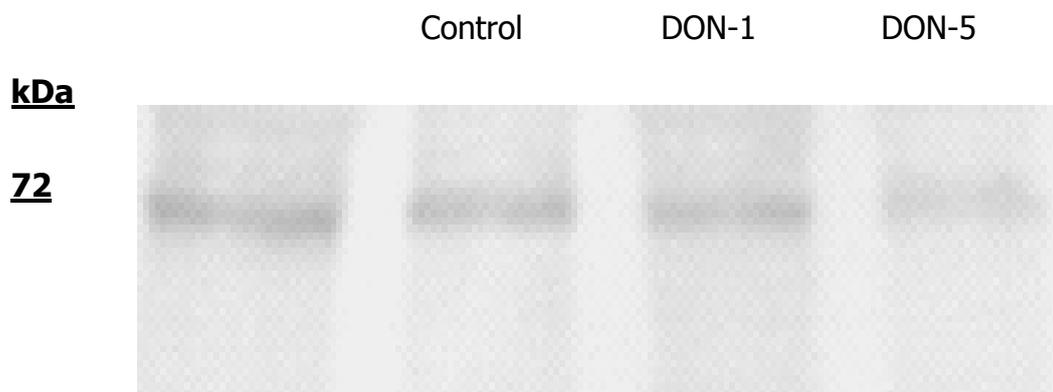


Figure 2: Western blot analysis of PepT1 at d 8. Gels were loaded with 20 µg of chicken intestinal brush border membrane on to 7.5 % polyacrylamide gels and subjected to electrophoresis followed by semi-dry electroblotting on to PVDF membrane. Membranes were probed simultaneously with a polyclonal chicken SGLT-1 antibody.

Discussion

The gastrointestinal mucosa serves as a dynamic barrier regulating uptake of nutrient and water, while excluding potential pathogens and toxicants (Oswald, 2006). Following ingestion of contaminated food or feed, intestinal epithelial cells could be exposed to a high concentration of toxicants, potentially affecting Intestinal functions (Bouhet and Oswald, 2005). The digestive tract is a target for the mycotoxin deoxynivalenol (DON), a major contaminant of cereals being a public health concern in Europe and world wide.

Na⁺-dependant glucose absorption was measured by the rise in short circuit-current (I_{sc}) in Ussing chambers after addition of glucose. This change in I_{sc} reflects both the activity of Na⁺-K⁺-ATPase pumping the sodium across the basolateral membrane and the resulting activity of SGLT-1 mediating the coupled entry of glucose and sodium at the apical side.

The results from the present study after feeding with DON for 5 weeks clearly showed that the electrogenic transport of glucose was reduced by DON (data not shown). Therefore, our objective was to get more insight into the possible mechanism of the effect of dietary inclusion of DON at different concentrations for 5 weeks on glucose transporter by Western Blot. Those studies suggest some explanations of how the *Fusarium* mycotoxin DON impairs digestive and absorptive functions in chickens.

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. In the present study (data not shown), the mean body-weight (BW) over the course of the experiment was not affected ($p > 0.05$) by dietary inclusion of DON contaminated wheat at both concentrations (1 and 5 mg/kg).

In vivo and in vitro studies suggest that DON affects intestinal epithelium integrity. Maresca et al. (2002) and Awad et al. (2007) showed that DON altered absorption of nutrients and the intestinal absorptive functions were affected. Additionally, the results from the present study demonstrated that DON alters glucose transporters in chickens.

We observed that intestinal damages and intestinal absorptive function after exposure to DON occurred close to levels that can be found in European cereals and complete diets for broilers. Therefore, with especial consideration of widespread human exposure to DON via cereal products, the risk characterization of DON needs to include the gastrointestinal effects. The mechanisms involved, either

linked to alterations in cell signalling at the level of mitogen-activated protein kinases (MAPKs) or at the intracellular levels, are yet to be elucidated.

In vivo and in vitro studies with intestine can contribute to improve our knowledge on plausible interactions of contaminants present simultaneously at the intestinal level. For this purpose, in parallel to histology analysis, specific cellular responses to toxic insults such as the expression of glucose transporters by western Blot were investigated. To the best of our knowledge, the present study is the first report in chicken intestine for studying the toxicological effects of DON on glucose transporters protein. In the present study, the relative abundance of SGLT-1 was 20 % lower in both DON treated groups compared with the control chickens

These data suggest that the various effects of DON on nutrient transport is due to the ability of the tricothecene to inhibit protein synthesis, as previously shown for cycloheximide-treated intestinal tissues and ascribed the functional consequences of mycotoxin action to their inhibitory action on RNA synthesis (Rotter et al., 1996).

Overall, the result has the very interesting implication that DON can indeed alter expression levels of nutrient transporters. Additionally, the decrease in glucose absorption observed in this study might be a consequence of a general impairment of epithelial protein synthesis and function. The decrease could be also due to either a decrease in SGLT1 activity and/or a decrease in Na⁺-K⁺-ATPase one. Consequently this work can be viewed as providing a contribution for the understanding of the mode of action of DON in the gastrointestinal tract.

References

- Awad, W. A., J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli, H. W. Hulan, and J. Zentek. 2004. Effects of deoxynivalenol on general performance and electrophysiological properties of intestinal mucosa of broiler chickens. *Poult. Sci.* 83:1964-1972
- Awad, W. A., J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli, K. Ghareeb, and J. Zentek. 2006. Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. *Poult. Sci.* 85:974-979
- Awad, W.A., H. Rehman, J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli and J. Zentek, 2005b. Effects of luminal deoxynivalenol the jejunums of laying hens. *Poult. Sci.*, 84:928-932
- Awad, W.A., J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli and J. Zentek, 2005a. In vitro effects of deoxynivalenol on electrical properties of intestinal mucosa of laying hens. *Poult. Sci.*, 84: 921-927
- Awad, W.A., J.R. Aschenbach, F.M.C.S. Setyabudi, E. Razzazi-Fazeli, J. Böhm and J. Zentek, 2007. In vitro effects of deoxynivalenol on small intestinal Dglucose uptake and absorption of deoxynivalenol across the isolated jejunal epithelium of laying hens. *Poult. Sci.*, 86: 15-20
- Bouhet, S., I. P. Oswald. 2005. The effects of mycotoxins, fungal food contaminants, on the intestinal epithelial cell-derived innate immune response. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 108: 199-209
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254
- Feinberg, B., C. S. McLaughlin. 1989. Biochemical mechanism of action of tricothecene mycotoxins. In: *Tricothecene mycotoxicosis: pathophysiological effects*. Beasley V. R. (ed). CRC Press, Boca Raton, Florida, Volume I. pp. 27-35
- Garriga, C., Rovira, N., Moret, M., Planas, J. M. 1999. Expression of Na⁺-D-glucose cotransporter in brush-border membrane of the chicken intestine. *American Journal of Physiology* 276, R627-631
- Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (Gfe). 1999. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Legehennen u. Masthühnern (Broiler). DLG Verlag, Frankfurt
- Gnoth, M. J., C. Kunz, E. Kinne-Saffran, S. Rudloff. 2000. Human milk oligosaccharides are minimally digested in vitro. *J. Nutr.* 130: 3014-3020
- Leeson, S., G. Diaz J. D. Summers. 1995. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. University Books. Guelph, Canada
- Maresca, M., R. Mahfoud, N. Garmy, J. Fantini. 2002. The mycotoxin deoxynivalenol affects nutrient absorption in human intestinal epithelial cells. *J. Nutr.* 132: 2723-31

National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry, 8th ed. Washington, DC: National Academy Press

Nguyen. T. N. 1999. Einfluss von Cis--Linolsäure auf die Aktivität Und Funktion der Na, K+-ATPase von Epithelzellen der Augenlinse. Doktor der Medizin Diss. Germany

Rotter, B. A. 1996. Invited Review: Toxicology Of Deoxynivalenol (Vomitoxin). J. Toxicol. Environ. Health A 48:1-34

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

Effects of aflatoxins and ochratoxin A on animal health

Khaled Ghareeb¹, Wageha A. Awad² and Josef Böhm¹

¹ Institute of Animal Nutrition, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

² Clinic for Avian, Reptile and Fish Medicine, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

Abstract

The most frequent toxigenic fungi in Europe are *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* species. They produce aflatoxin B1 transformed into aflatoxin M1 found in the milk, as well as Ochratoxins and Zearalenone, Fumonisin B1, T-2 toxin, HT-2 toxin and deoxynivalenol (vomitoxin), which are of increasing concern in human health. These mycotoxins are under continuous survey in Europe, but the regulatory aspects still need to be set up and/or harmonised at European level. They are found in foodstuffs and are not destroyed by normal industrial processing or cooking since they are heat-stable. Some of their metabolites are still toxic and may be involved in human diseases. Their toxic effects (liver, kidney and haematopoietic toxicity, immune toxicity, reproduction toxicity, foetal toxicity and teratogenicity, and mainly carcinogenicity) are mostly known in experimental models. Chemical assays are of major importance for the determination of mycotoxins. Generally, all chemical methods for the analysis of mycotoxins include the basic steps of extraction, clean-up, separation, detection, quantification and confirmation of identity. The various approaches that exist for the determination of nephrotoxic mycotoxins, and in particular the ochratoxins are discussed below. This paper gives an overview of chromatographic methods used for the determination of aflatoxin and ochratoxin A (OA) in animal and human tissues and fluids. These methods are needed for monitoring studies of OA occurrence in the food chain and for studies dealing with the OA carry-over. The review includes sampling, sample storage, extraction, spiking procedures, clean-up, detection and determination, and confirmation procedures.

Introduction

Mycotoxins are microbial agents which cause food or feed-borne intoxications and are therefore considered as undesirable substances in feed and food. Mycotoxins are compounds often found in cereal grains and forages (Sweeney and Dobson, 1998). These toxins are produced by saprophytic fungi during storage or by endophytic fungi during plant growth. Mycotoxins are secondary metabolites of certain fungi, mostly *Penicillium* and *Fusarium*. They are produced in cereal grains as well as forages before, during and after harvest, in various environmental conditions. Due to the diversity of their toxic effects and their synergetic properties, mycotoxins are considered as risks for consumers of contaminated foods and feeds (Yiannikouris and Jonany, 2002). They can cause acute and chronic toxic effects in animals and can be transferred into products, or may affect human health directly. They are relatively small molecules with highly diverse chemical structures and biological activity.

The production of mycotoxins is not essential for the fungal growth or reproduction, but could be a "virulence factor" for some plant diseases and act against other microorganisms and higher organisms (Desjardins et al., 1993; Puschner, 2002). Plant stressors such as draught or over-irritation, insect damage and pesticide exposure result in a higher susceptibility to fungal infection, whereas the pro-

duction of mycotoxins may be due to stress or altered conditions for the fungus (Oldenburg et al., 2000).

Mycotoxin production does not only depend on the genotype of a certain strain alone, but also on a range of environmental factors including humidity, temperature, water activity, processing-errors and insect damage, which have an influence on fungal growth and metabolism (CAST, 2003). Most mycotoxins are stable chemical compounds and cannot be destroyed by processing and heat treatment of feed and foodstuffs. When the fungal metabolites present in foods in sufficiently high levels, they can have toxic effects, either acute (for example, liver or kidney deterioration), chronic (for example, liver cancer), mutagenic, or teratogenic. The resulting symptoms range from skin irritation to immunosuppression, birth defects, neurotoxicity, and death (Murphy et al., 2006).

No region of the world escapes the problem of mycotoxins and according to Lawlor and Lynch (2005) mycotoxins are estimated to affect as much as 25 percent of the world's crops each year. Whether grain is produced in temperate, sub-tropical or tropical climates, if rainfall and humidity are experienced in the harvest season, infection of the grain by fungi is likely. In most European countries aflatoxins are not considered to be a major problem in domestic crops or forages. In contrast, vomitoxin, ochratoxin, zearalenone are found more frequently. Aflatoxins are common in humid climatic conditions like those existing in Asian and African countries and certain parts of Australia.

Apart from direct effects, the economic consequences of mycotoxin-induced poor performance and productivity are additional important factors in animal husbandry and the multiplier effect this has on other industries as a result of the reduced spending power of producers. Costs of chemical analyses, quality control and regulatory programs, research and development, extension services, law suits, and the cost of human illnesses must all be borne by the national economy.

The value of the losses encountered depends on grain, animal, and animal product prices, interest rates, degree of contamination, and other economic variables. Even during favourable seasons it is likely that millions of dollars are lost as a result of the contamination of crops with mycotoxins (Charmley et al., 1995). Problems associated with mycotoxin contamination and the economic losses resulting will continue to be seen in food and agriculture industries.

Therefore, it can be predicted that food and feed are always contaminated with toxins to a greater or less extent, and with increasing accuracy of analysis (lower detection limits) toxins can be detected in more and more cases.

Food borne mycotoxins

Deoxynivalenol, Nivalenol, Zearalenone, Ochratoxin, Aflatoxins and Fumonisin occur quite often in food (Table 1). T 2 toxin is also found in a variety of grains but its occurrence is less frequent than the other mycotoxins.

The food –borne mycotoxins are of greatest significance for human health in tropical developing countries is aflatoxins and the fumonisins. Fumonisin have been found as a very common contaminant of maize-based food and feed in Africa, China, France, Italy, and the USA.

Which are the relevant mycotoxins to be analysed?

According to the survey, the most important mycotoxins are the following: aflatoxins (AFB1, B2, G1, and G2), ochratoxin A (OA), tricothecenes, zearalenone and fumonisins (B1, B2). Of the tricothecenes, attention is paid mainly to deoxynivalenol (DON or vomitoxin), nivalenol and T2-toxin. Some laboratories also focused on HT2 toxin, 3-Ac-DON, DAS, Fusarenon-X, Neosolaniol and 15-Ac-DON. Surveys were published in the brewing world recently describing the most important mycotoxins, the produc-

ing agents and the toxicological effects and giving guidelines to avoid or reduce the level of mycotoxins.

Table 1: Mycotoxins in grains

Mycotoxin	Commodity	Fungal source(s)	Effects of ingestion
Aflatoxin B1, B2	maize, peanuts, and many other commodities	<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxin B1, and naturally occurring mixtures of aflatoxins, identified as potent human carcinogens by IARC.
Aflatoxin B1, B2, G1, G2	maize, peanuts	<i>Aspergillus parasiti</i>	Adverse effects in various animals, especially chickens
Ochratoxin A	barley, wheat, and many other commodities	<i>Aspergillus Ochraceus</i> <i>Penicillium verrucosum</i>	Suspected by IARC as human carcinogen. Carcinogenic in laboratory animals and pigs
Fumonisin B1	maize	<i>Fusarium moniliforme</i> plus several less common species	Suspected by IARC as human carcinogen. Toxic to pigs and poultry. Cause of equine leukoencephalomalacia (ELEM), a fatal disease of horses
Deoxynivalenol / nivalenol	wheat, maize, barley	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium crookwellense</i> <i>Fusarium culmorum</i>	Human toxicoses India, China, Japan, and Korea. Toxic to animals, especially pigs
Zearalenone	maize, wheat	<i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i>	Identified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as a possible human carcinogen. Affects reproductive system in female pigs

Aflatoxins

There is to our knowledge very little evidence of the occurrence of aflatoxins in European cereals but a regulation exists in the EC and in some other countries. Therefore, the analysis of aflatoxins has to be included in mycotoxins management.

Aflatoxins are toxic metabolites produced by certain fungi (*Aspergillus* species) in/on foods and feeds predominantly in hot and humid regions. They are probably the best known and most intensively researched mycotoxins in the world. Aflatoxins have been associated with various diseases, such as aflatoxicosis, in livestock, domestic animals and humans throughout the world. They were the first mycotoxins that were identified as potential health hazard, when 100.000 turkeys died from an acute necrosis of the liver after consuming groundnuts infected by *Aspergillus flavus* and contaminated by aflatoxin that was termed "Turkey X disease".

The occurrence of aflatoxins is influenced by certain environmental factors; hence the extent of contamination will vary with geographic location, agricultural and agronomic practices, and the susceptibility of commodities to fungal invasion during preharvest, storage, and/or processing periods. Aflatoxins have received greater attention than any other mycotoxins because of their demonstrated potent carcinogenic effect in susceptible laboratory animals and their acute toxicological effects in humans. In fact, it was shown that they belong to the most potent nephrotoxic natural compounds and liver carcinogens. Due to carryover in food and feed they are considered nowadays to have the most severe impact of all mycotoxins on human health. Maximum residue levels have been set down to the ppb range in a wide variety of agricultural commodities, food, feed and milk, as e.g. 0.01 µg/kg of aflatoxin M₁ (AFM₁) in milk for infants. The major ones are B₁, B₂, G₁, G₂, and M₁. They are found in a wide variety of foodstuffs including nuts, cereals, dried fruit and milk. "B" and "G" refer to the blue or green fluorescence observed upon exposure of the toxin to ultraviolet irradiation. M₁ is the predominant metabolite of AFB₁ in milk from lactating humans and animals that consume AFB₁-contaminated food or feed.

As it is realized that absolute safety is never achieved, many countries have attempted to limit exposure to aflatoxins by imposing regulatory limits on commodities intended for use as food and feed. It appears that in Africa, Latin America and North America no observable changes have occurred, in contrast to Asia/Oceania and Europe, where a downward trend in the limits for total aflatoxins is visible. Regulations have been set in more than 70 countries in order to restrict the intake of mycotoxins (FAO, 1997) However, the legal limits vary significantly both from country to country and by mycotoxin type and matrix. For example, limits for aflatoxins in foodstuffs range from 0 to 50 ng/g.

The frequent occurrence of aflatoxins, has already led to temporary bans of certain "high-risk" foods imported into Europe, where limits have been established at relatively low levels.

Regulatory authorities in those countries that apply a regulatory level for the sum of the aflatoxins should critically inspect the analytical data of monitoring agencies to see how frequently the availability of data on the sum of the aflatoxins (has been indispensable to adequately protect the consumer. Analysis of one target component (aflatoxin B₁) seems to be efficient, sufficient and more practical.

Methods of Analysis

A reliable risk assessment of mycotoxin contamination for humans and animals relies basically on their identification and accurate quantification in food and feedstuff. In general, fast and easy-to-use ELISA based aflatoxin screening kits are commercially available for all major types of aflatoxins. Quantification is predominantly done with LC-FL. Due to the excellent native fluorescence activity of aflatoxins detection limits in the low ppb range can easily be achieved when iodine is added post-column to enhance method sensitivity. In addition, immunoaffinity sample clean up has been shown to have a great potential to increase method specificity and sensitivity by selective enrichment and isolation of the target aflatoxins.

Just a limited number of quantitative methods have been published to determine major aflatoxins and the structurally related sterigmatocystin in, milk, herbs, and urine. The most screening methods for mycotoxins are based on immunoassays; analyte confirmation can be easily achieved with mass spectrometric methods, like gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) or liquid chromatogra-

phy/mass spectrometry (LC/MS). Analytical methods used by enforcement laboratories for the implementation of legislation must be subject to validation procedures, in order to show that the method produces reliable results (EC, 1993). These methods need to provide accurate and reproducible results both within and between laboratories. This is especially important in view of legal actions and trade specifications, as well as monitoring and risk-assessment studies.

Sample preparation

Sampling and sample preparation remain a considerable source of error in the analytical identification of aflatoxins.

There is also variability in the sub-sampling procedure used to grind and mix the sample. Sub-sampling variance is not as large as the sampling variance due to the larger number of particles after comminution. Both sampling and sub-sampling variances are a function of the sample size, mycotoxin concentration and matrix. Aflatoxins continue to be the only mycotoxins for which theoretical and practical studies of these variability's have been carried out-particularly on shelled corn, cottonseed, peanuts and peanut products, other nuts, and palm kernels.

The production of mycotoxins is not homogeneous. For instance, Ochratoxin A contamination often occurs in spots during storage in silos. In consequence, a poor sampling procedure of the batch can miss the highly infected grains. Therefore, it has recommended a procedure for a sampling according to the size of the batch. This includes 10 to 100 incremental samples up to a total of 10 kilos that have to be milled before analyses.

Thus, systematic approaches to sampling, sample preparation, and analysis are absolutely necessary to determine aflatoxins at the parts-per-billion level. In this regard, many plans have been developed and tested for some commodities such as corn, peanuts, and tree nuts. A common feature of all sampling plans is that the entire primary sample must be ground and mixed so that the analytical test portion has the same concentration of toxin as the original sample.

Extraction and clean-up are one of the most critical steps in analytical procedures. Clean-up of the sample extract is generally necessary when low detection limit is required. They can be performed in different ways:

Solid-Phase Extraction: All analytical procedures include three steps: extraction, purification, and determination. The most significant recent improvement in the purification step is the use of solid-phase extraction. Test extracts are cleaned up before instrumental analysis (thin layer or liquid chromatography) to remove co-extracted materials that often interfere with the determination of target analytes.

Thin-Layer Chromatography: Thin layer chromatography (TLC), also known as flat bed chromatography or planar chromatography is one of the most widely used separation techniques in aflatoxin analysis. Since 1990, it has been considered the AOAC official method and the method of choice to identify and quantitate aflatoxins at levels as low as 1 ng/g. The TLC method is also used to verify findings by newer, more rapid techniques.

Liquid Chromatography: Liquid chromatography (LC) is similar to TLC in many respects, including analyte application, stationary phase, and mobile phase. Liquid chromatography and TLC complement each other. For an analyst to use TLC for preliminary work to optimize LC separation conditions is not unusual. Liquid chromatography methods for the determination of aflatoxins in foods include normal-phase LC (NPLC), reversed-phase LC (RPLC) with pre- or before-column derivatization (BCD), RPLC followed by postcolumn derivatization (PCD), and RPLC with electrochemical detection.

Immunochemical Methods: Thin layer chromatography and LC methods for determining aflatoxins in food are laborious and time consuming. Often, these techniques require knowledge and experience

of chromatographic techniques to solve separation and interference problems. Through advances in biotechnology, highly specific antibody-based tests are now commercially available that can identify and measure aflatoxins in food in less than 10 minutes. These tests are based on the affinities of the monoclonal or polyclonal antibodies for aflatoxins. The three types of immunochemical methods are radioimmunoassay (RIA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and immunoaffinity column assay (ICA).

Mycosep® columns: The multifunctional clean-up columns consist of packing material containing a variety of adsorbents, e.g. charcoal, celite, ion-exchange resins, and others (Krska & Josephs, 2001). The packing material is housed in a plastic tube between filter discs with a rubber flange on the lower end containing a porous frit and a 1-way valve. When the column is inserted into the culture tube the flange seals tightly, thus forcing the extract through the packing material of the column to the top of the plastic tube. The Mycosep column enables rapid sample purification within 10 to 30 seconds.

Although analytical methods might consist of different extraction, clean-up, and quantitation steps, the results of the analyses by such methods should be similar when the methods are applied properly. Since the reliability of the quantitative data is not in question, the problem still to be solved is the confirmation of identity of the aflatoxins. The confirmation techniques used involve either chemical derivatization or mass spectrometry (MS).

Aflatoxicosis and animal health

No animal species is immune to the acute toxic effects of aflatoxins including humans; however, humans have an extraordinarily high tolerance for aflatoxin exposure and rarely succumb to acute aflatoxicosis. Aflatoxin is a potent toxin. It binds to nucleic acids and also impairs protein formation in the body. They may thus cause organ damage and/or cancer from prolonged exposure. Low levels of aflatoxins in feeds - sometimes less than 1 part per million (PPM) – can cause poor growth, interfere with the immune system and result in liver damage and bleeding. High dosages cause acute loss of appetite, depression, haemorrhage, diarrhoea and death.

Aflatoxicosis is primarily a hepatic disease. The susceptibility of individual animals to aflatoxins varies considerably depending on species, age, sex, and nutrition. In fact, aflatoxins cause liver damage, alteration in digestion, and absorption and/or metabolism of nutrients, decreased milk and egg production, recurrent infection as a result of immunity suppression (eg. salmonellosis), in addition to embryo toxicity in animals consuming low dietary concentrations. While the young of a species are most susceptible, all ages are affected but in different degrees for different species. Clinical signs of aflatoxicosis in animals include gastrointestinal dysfunction, reduced reproductively, reduced feed utilization and efficiency, anaemia, and jaundice.

Animal susceptibility varies with species and age. In general, young animals (pre-weaning to early adolescence) are more affected than are adult animals. Species that are highly sensitive are trout, ducks, turkey poults and pre-weaning pigs. Animals that are moderately sensitive include all swine, growing turkeys, broiler chicks, pre-ruminant calves, dogs and horses. Animals most resistant are beef feedlot cattle, open cows, and sheep. Aflatoxin generally does not interfere with fertility or cause abortions. However, nursing animals may be affected as a result of the conversion of aflatoxin B1 to the metabolite aflatoxin M1 excreted in milk of dairy cattle. The induction of cancer by aflatoxins has been extensively studied. Aflatoxin B1, aflatoxin M1, and aflatoxin G1 have been shown to cause various types of cancer in different animal species. However, only aflatoxin B1 is considered by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as having produced sufficient evidence of carcinogenicity in experimental animals to be identified as a carcinogen.

The clinical effects of aflatoxins may also be produced by some other diseases or toxins. Veterinary examination for differential causes of disease should always accompany a suspected aflatoxin poisoning case. Characteristic changes occur in liver which can be confirmed by microscopic examination.

Aflatoxin metabolites (Aflatoxin M1) can be detected in liver, kidney, urine and milk to confirm exposure and to determine if residues are a problem. Aflatoxin is excreted rapidly from the body, so detectable levels may be gone within a few days to one to two weeks. Complete laboratory submission for diagnosis should include suspect grain or feed, fresh liver and kidney, urine if available, serum for laboratory tests of liver function and rumen or stomach contents. A portion of liver, kidney and other organs should be put in formalin for microscopic examination.

Ochratoxin A

Ochratoxin A is mainly produced by *Penicillium verrucosum* and several species of *Aspergillus*. It is a storage mycotoxin, but it can be produced during the malting process. Ochratoxin A (OA) is a mycotoxin with nephrotoxic and immunosuppressive properties (Murphy et al., 2006) and has been classified by the IARC as a Class 2B carcinogen, probable human carcinogen (IARC, 1993).

Contamination is most commonly associated with cereals, pulses coffee and wine. Unlike aflatoxins, the organisms which produce ochratoxin A can thrive in the temperatures and humidity commonly found in temperate countries. There is no European Regulation for ochratoxin at this moment. A directive concerning the sampling methods and the methods of analysis of ochratoxin A in foodstuffs.

The intake of OA by contaminated feed may lead to residues in the blood, the kidney and the liver of pigs and of poultry and to a lesser extent in muscle tissue, adipose and eggs (Krogh, 1987). Transfer to milk has been demonstrated in rats, rabbits and humans, but little is transferred to the milk of ruminants owing to metabolism of OA by the rumen microflora. Thus, products of animal origin can contribute to the OA- intake of humans.

For the quantification of ochratoxin A, the use of thin layer chromatography or HPLC-FLD method for corn and barley using a clean-up of the extract on a C18 column, or by HPLC-FLD and a clean up by IA. AOAC has recently adopted a method for OA in barley. The detection limits reported by HPLC ranged from 0.1 to 2 ppb in barley

In conventional procedures, clean-up is usually achieved by liquid-liquid extraction or adsorption column chromatography, followed by thin-layer chromatography or high-performance liquid chromatography and ultraviolet or fluorescence detection. The recent introduction of methods based on immunochemical principles has had a large impact on analytical methodology for mycotoxins, including the ochratoxins, in both the purification and determination steps. The enzyme-linked immunosorbent assay approach for screening and (semi-) quantitative determination and the immunoaffinity column approach for rapid clean-up followed by conventional instrumental analysis are rapidly gaining ground. The advantages of this approach are the possibility to obtain very clean extracts and to simplify the extraction and clean-up procedures. However, in case of OA analysis in tissues and fluids, further improvements in the methodology are required.

Contamination of cereal commodities with mycotoxins represents a significant hazard to consumer health and has thus received increasing attention from food safety authorities and legislators (Table 2). Knowledge of the pre- and post-harvest stages in the cereal production chain and in particular information on where prevention strategies can be implemented is being used to develop quality assurance systems for improving food safety. Information on the ecology of fungal species, breeding for resistance, more effective fungicides, potential for biological control and effective drying and storage and preservation systems, are all helping to develop effective preventative strategies for minimising consumer exposure to mycotoxins.

Table 2: Average ochratoxin A (OA) contamination levels of relevant food category and number of samples

	JECFA (FAO/WHO, 2001)		SCOOP (EC, 2002)	
	n	mean ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	n	mean ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Cereals and products	1538	0.20 (a)	5180	0.29
Beer	975	0.02	496	0.03
Wine	1828	0.32	1470	0.36
Grape juice	87	0.39	146	0.55
Cocoa	171	0.55	547	0.24
Pork (edible offal)	3603	0.17	1860	0.20
Roasted coffee (b)	2085	0.62	1184	0.72
Instant coffee (c)	767	0.76	-	-

References

- Charmley LL, Trenholm HL, Prelusky DB, Rosenberg A. Economic losses and decontamination. *Nat Toxins* 1995, 3, 199-203.
- Council for Agricultural science and technology (CAST). Mycotoxins. In: Risks in plant, Animal and Human system. Task Force Report, No. 139. Cast, Ames, USA, 2003, 199 S.
- Desjardins AE, Hohn TM, McCormick SP. Trichothecene biosynthesis in *Fusarium* species: chemistry, genetics, and significance. *Microbiol Rev* 1993, 57, 595-604.
- European Commission, Council Directive 93/99/EEC. On the subject of Additional Measures Concerning the Official Control of Foodstuffs, Official Journal of the European Communities L290, 1993.
- Food and Agriculture Organization (FAO). Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. Rome, Italy, 2004.
- Food and Agriculture Organization (FAO). Food and Nutrition Paper 64, FAO, Rome, Italy, 1997.
- International Agency for Research in Cancer (IARC). Toxins derived from some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human, 1993, pp. 56-397.
- Krogh P. In: P. Krogh (Editor), Mycotoxins in Food, and fluids. In general, for the properties of OA as an Academic Press, London, 1987, pp. 97.
- Lawlor PG, Lynch PB. Mycotoxin management. *Afric Farm Food Process* 2005, 46, 12-13.
- Murphy PA, Hendrich S, Landgren C, Bryant CM. Food mycotoxins: An update. *J Food Sci* 2006, 71, 51-65.
- Oldenburg E, Valenta H, Sator Ch. Risikoabschätzung und Vermeidungsstrategien bei der Futtermittelerzeugung. In: Dänicke, S., Oldenburg E. (Hrsg.), Risikofaktoren für die Fusariumtoxinbildung und Vermeidungsstrategien bei der Futtermittelerzeugung und Fütterung. Landbauforschung Völkenrode. Sonderheft 2000, 216, 5-34.
- Puschner B. Mycotoxins. *Vet Clin Small Anim* 2002, 32, 409-419.
- Sweeney MJ, Dobson ADW. Review: mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int J Food Microbiol* 1998, 43, 141-158.
- Yiannikouris A, Jonany J. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim Res* 2002, 51, 81-99.

Corresponding author

Dr. Khaled Ghareeb
 University of Veterinary Medicine Vienna (Vetmeduni)
 Department for Farm Animals and Veterinary Public Health
 Institute of Animal Nutrition
 Veterinärplatz 1
 A-1210 Vienna, Austria

Ecological research of rabbits' nutrition

Paulius Matusevičius¹, Krzysztof Kozłowski² and Heinz Jeroch²

¹ Lithuanian University of Health Sciences Veterinary Academy, Kaunas, Lithuania

² University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Poultry Sciences, Olsztyn, Poland

Introduction

Growing concern about food safety and human health increased the expansion of organic farming in all Europe during last few years. Since old times, each user was concerned about food safety, animal welfare and environmental impact of animal husbandry. However, in recent decades, the rapid increase of environmental pollution due to intensive animal farming caused the search for alternatives. One of them is organic livestock production.

Organic farming occupies a special position among various technologies in agriculture. In the development of rabbit breeding it is important to take into account the physiology, behavior, hereditary needs of rabbits as well as to provide them with sufficient amount of quality ecological feedstuff and to assure proper veterinary care. The research aims to study the digestibility of nutrients in rations, used for feeding rabbits with organic feedstuff. The obtained digestibility coefficients of feedstuff nutrients point to a high level of digestion of nutrients, which assures fulfillment of rabbits' nutritional needs. The proteins in pulses are rich in indispensable amino acids (especially lysine) and their digestibility is better compared to that of grain. Swallowing of night faeces affects the digestibility of nutrients in the ration, especially that of proteins. When coprophagy is incomplete, digestibility of dry matter decreases.

Rabbits' digestive system is specific as compared with other species. Microbial activity in caecum is very important for digestion and nutrient uptake processes. Stomach, an important section of rabbit's digestive system is always filled. After coprophagy lower part of the stomach is used for night faeces. Microbial activity in caecum along with rabbit coprophagy allows getting extra energy, amino acids and vitamins in a rabbit's organism.

Materials and methods

The aim of the test is – to investigate the digestibility of nutrients in diets for rabbits fed with organic feed. Tasks of the study – to evaluate advantages and disadvantages of organic rabbits' feeding and to determine influence of organic feeding on digestibility of feed nutrients. The object of the study – New Zealand rabbits fed organic feed. Feeding: Each group of rabbits fed different diets. During the testing period, all rabbits were given the same amount of feed. The rabbits had access to drink *ad libitum*. The diets compounded of (in kg OM): crude ash, 49 g; crude protein, 175; crude fat, 44 g; crude fibre, 145; metabolic energy, 9.83 MJ.

Keeping: Rabbits were kept in individual cages with mesh floors and with the installed plate beneath, corresponding to the size of a floor for collecting urine and faeces separately. Digestibility: At the University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Faculty of the Bioengineering, researches of faeces, urine and feed chemical composition were carried out. We have determined digestibility of feed nutrients: organic matter, crude protein; crude fat and fiber; crude protein – according to nitrogen content, determined by the Kjeldahl method, crude fiber – by Kirschner-Ganek method.

Results and discussion

Excretion of night faeces depends on feed distribution time. It is recommended to distribute feed once a day early in the morning, otherwise the excretion pattern is altered, which can result in slower growth. Quantity of night faeces varies depending on age, physiological state and on diet. Amount of excreted night faeces varied from 15 to 30 g DM/day, the average was 20.8 g DM/day (i.e., close to 10 g DM per 1 kg of live weight).

Composition of night faeces varies, depending on the chemical composition of a diet and most of all on feed composition of the diet. Higher values associate with poorly digestible diets, with higher nitrogen intake from diet or with indigestible additives. Used feed grain (winter wheat, barley and oats) had lower crude protein content and content of essential amino acids - lysine, threonine and tryptophan.

Forage protein is accumulated in leaves. Leaf protein, unlike grain storage protein, is associated with leaf cells' growth and biochemical functions and is found in their cytoplasm. Thus, the main portion of leaf protein is separated from the cell wall by a membrane; however a comparatively small fraction of insoluble protein remains firmly joined with the cellulose of a cell's wall. Studies of nutrient digestibility in diets have shown that digestibility of forage dry matter, crude fiber and crude protein was better in rabbits from treatment experimental groups.

It was determined that the total amount of nitrogen was digested better in experiment groups. Dietary crude protein has a specific function in the maintenance of life and productivity, and if necessary can be used as energy source. If there is excess protein, followed by deamination, it is also used for energy production. The digestibility studies have shown that digestibility of crude protein and crude fibre was mostly affected.

It can be concluded that ingestion of faeces for the second time at night (night faeces) has influence on the digestibility of dietary nutrients, especially protein digestibility. When coprophagy was incomplete, digestibility of DM decreased slightly to 1-2%, although differences were not observed in some experiments. Concerning amino acids, more attention is paid to arginine, lysine and sulfur-containing amino acids (methionine and cystine). Lysine requirement for growing rabbits is 0.6%, and required amino acids containing sulfur are 0.7 to 0.9% of the diet. However, composition of some feed stuff (in particular non-nutritional factors and high ratio of nitrogen extraction materials) can affect the digestibility level of dietary protein.

Conclusions

When rabbits are growing organically and by applying complex daily diets, amino acids ingested with night faeces are sufficient to meet the nutritional needs: The obtained feed nutrient digestion coefficients reflect a high level of nutrients' conversion, ensuring satisfaction of rabbit needs. Legume proteins contain more essential amino acids (especially lysine) and the digestibility of legume crops is better than digestibility of protein in cereals. Rabbits in the treatment groups exhibited better digestibility of nutrients DM 1.3-2.6 % ($P < 0,025$), crude fiber 7.8 % ($P < 0.01$) and crude protein 2.8-4.1 % ($P > 0.05$) than the control group peers.

Ingestion of night faeces affects digestibility of dietary nutrients, especially protein's digestibility ($P > 0.05$) in organically fed rabbits.

Organic feed grain is provided with less nitrogen. Crude protein content and essential amino acids (lysine, threonine, and tryptophan) content in organic grain is lower than in the commonly used feeding table, and we recommend enrichment of organic feed with vitamin and mineral premixes.

References

Carabano R., Villamide M.J., Garcia J., Nicodemus N., Llorente A., Chamorro S., Menoyo D., Garcia-Rebollar P., Garcia-Ruiz A.L., de Blas J.C. New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits: a review. *World Rabbit Science*. Vol 17 (1), 477-490

Pinheiro V., Gidenne T., Falcão-e-Cunha L. (2001): Effect of age on bacterial fibrolytic activity of caecal flora of rabbit. In *Proceedings 2nd Meeting Godollo*, 848

Corresponding author

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

The comparison of chromic oxide and acid insoluble ash as markers in digestibility studies

Matej Brestenský, Soňa Nitrayová, Peter Patráš and Jaroslav Heger

Animal Production Research Centre Nitra, Slovak Republic

Introduction

Digestibility markers are routinely used in digestibility studies to eliminate the need of total collection of the produced digesta (Sales and Janssens, 2003). In digestibility studies chromic oxide (Cr_2O_3) has been used as indigestible marker for years (Saha and Gilbreath, 1993; Lázaro et al., 2003). It is not digestible and not absorbed in the digestive tract, and it is evenly distributed in ileal digesta. On the other hand, Cr is a heavy contaminant of the environment (Sprinkle et al., 1995) and has carcinogenic properties (Peddie et al., 1982).

Some authors reported (Jongbloed et al., 1991) that acid insoluble ash is an adequate alternative to chromic oxide in digestibility experiments. Acid insoluble ash (AIA) is a natural alternative to mineral external markers. Its mean recovery rate was shown to be close to 100% in several species (Sales and Janssens, 2003). Acid insoluble ash naturally occurs in feed ingredients (McCarthy et al., 1974) but the amount of AIA in the final feed is usually low, therefore it is necessary to supply an extra amount of the marker in the diet to increase the accuracy of the chemical analysis (Van Leeuwen et al., 1996; Gracia et al., 2003). In the case that the native concentration of ash was low, Moughan et al. (1991) suggested to supply the infusorial earth as an additional source of AIA in experimental diets. Acid insoluble ash may be used in two ways: either as a native component of feeds (Wünsche et al., 1984) or as a combination of natural and supplementary AIA sources (Van Leeuwen et al., 1996).

Some research works has been focused on the comparison of digestibility markers - chromic oxide and acid insoluble ash (Bakker and Jongbloed, 1994; Scott and Hall, 1988) but the results were not consistent. Bakker and Jongbloed (1994) concluded that AIA was not suitable as a digestibility marker owing to the higher variability of digestibility values in comparison with chromic oxide. In contrast, Scott and Hall (1988) observed that AIA offered more precise results of ileal digestibility values in comparison to chromic oxide.

The objective of this study was to estimate endogenous ileal flow of amino acids and nitrogen using chromic oxide and acid insoluble ash.

Materials and methods

Animals and experimental design

In this study we used 6 gilts with initial body weight 30 ± 0.7 kg. The animals were fitted with t-cannula in terminal ileum and were housed in balance cages. After a 14 days adaptation period during which the animals were fed a standard diet, a 6 days experimental period followed during which experimental diets were fed. On day 7, we collected ileal digesta for 24 hours. The samples of ileal digesta were acidified with 6M H_2SO_4 to pH 3.5 to eliminate microbial and enzymatic activity. The samples were frozen at -20 °C and stored for subsequent analyses.

Diets and feeding

The composition of experimental diets is given in Table 1. We used three synthetic diets. The diets were fed to animals according to Schedule 1.

Schedule 1: Allocation of treatments

Period	Pig. n.					
	1	2	3	4	5	6
1	A4	K4	K8	A4	K4	K8
2	K8	A4	K4	K8	A4	K4
3	K4	K8	A4	K4	K8	A4
4	A4	K4	K8	A4	K4	K8

The diets were based on maize starch, sucrose and cellulose. Diet A4 was nitrogen-free, while diets K4 and K8 contained 4 and 8 % casein, respectively. As indigestible markers we used chromic oxide in amount 0.3 % of diet and celite in amount of 1 % diet. The diets were fed twice daily at 7.00 a 16.00 h in two equal doses at a daily amount of 75-85 g/kg^{0.75}. Water was offered *ad libitum*.

Table 1: Composition of experimental diets (g/kg air-dry basis)

	Diet		
	K4	K8	A4
Maize starch	684.0	644.0	724.0
Sucrose	100.0	100.0	100.0
Cellulose	50.0	50.0	50.0
Oil	60.0	60.0	60.0
Mineral mixture	50.0	50.0	50.0
Premix ¹	3.0	3.0	3.0
Casein	40.0	80.0	-
Chromic oxide	3.0	3.0	3.0
Celite	10.0	10.0	10.0

¹ Supplied per kg of diet: vit. A 9 000 IU, vit. D3 1 500 IU, α-tocopherol 35.0 mg, vit. B1 1.7 mg, vit. B2 6.0 mg, vit. B6 2.5 mg, Ca-pantothenate 15.0 mg, niacin 38.0 mg, vit. K3 2.0 mg, biotin 0.12 mg, cyanocobalamin 0.03 mg, choline 156 mg, Fe 103.0 mg, Zn 116.5 mg, Mn 49.0 mg, Cu 40.0 mg, I 1.2 mg, Co 0.4 mg, Se 0.3 mg, lysine 3.82 g, methionine 0.8 g, threonine 1.72 g.

Chemical analyses

In samples of diets and lyophilized samples of ileal digesta we estimated nitrogen content using standard methods of AOAC (1984) and chromic oxide according to Williams et al. (1962). Acid insoluble ash was analyzed by a gravimetric method after acid hydrolysis with 3M HCl followed by ashing at 550 °C.

Amino acids were analysed after acid hydrolysis with HCl and methionine and cysteine after oxidative hydrolysis using automatic amino acid analyzer AAA 400 (fy Ingos Prague).

Calculation and statistical analyses

Endogenous ileal flow was calculated according to the following formula:

$$\text{EIF} = \text{Ab}_i \times \text{M}_d / \text{M}_i$$

Where EIF is endogenous ileal flow (g/kg DM), Ab_i is the concentration of an AA in ileal digesta (g/kg DM) and M_d and M_i are concentrations of markers (Cr_2O_3 , AIA) (g/kg DM) in the diet and ileal digesta, respectively.

The experimental 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.

Results and discussion

In our study comparing Cr_2O_3 and AIA, we found no significant differences between the values of ileal endogenous losses of amino acids or of total N estimated by the two digestibility markers (Table 2).

Table 2: Comparison of ileal endogenous flow of nitrogen and amino acids estimated using chromic oxide or acid insoluble ash (g/kg)

	K4				K8				A4			
	Cr_2O_3		AIA		Cr_2O_3		AIA		Cr_2O_3		AIA	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
N	2.9	1.12	2.9	1.07	3.0	0.70	2.9	0.61	2.8	1.12	2.9	1.21
Asp	0.8	0.16	0.7	0.16	0.9	0.26	0.8	0.20	0.8	0.34	0.8	0.32
Thr	0.6	0.15	0.6	0.15	0.8	0.30	0.7	0.25	0.7	0.27	0.7	0.27
Ser	1.0	0.26	0.9	0.25	1.2	0.38	1.2	0.28	0.6	0.25	0.6	0.26
Glu	1.3	0.31	1.3	0.29	1.8	0.52	1.8	0.39	0.9	0.36	0.9	0.34
Pro	6.2	5.03	6.0	4.88	4.8	3.77	4.8	3.96	5.1	5.15	5.3	5.43
Gly	1.6	0.83	1.6	0.8	1.5	0.53	1.5	0.54	1.5	0.7	1.6	0.78
Ala	0.5	0.16	0.5	0.15	0.6	0.10	0.6	0.10	0.6	0.22	0.6	0.22
Val	0.5	0.11	0.5	0.11	0.6	0.24	0.6	0.20	0.5	0.26	0.5	0.23
Ile	0.5	0.13	0.5	0.13	0.7	0.20	0.7	0.15	0.4	0.19	0.4	0.17
Leu	0.7	0.21	0.7	0.21	0.8	0.37	0.8	0.30	0.8	0.38	0.8	0.38
Tyr	0.2	0.05	0.2	0.05	0.2	0.10	0.2	0.09	0.2	0.14	0.2	0.13
Phe	0.3	0.09	0.3	0.09	0.3	0.15	0.3	0.14	0.4	0.22	0.4	0.22
His	0.2	0.05	0.2	0.05	0.3	0.07	0.3	0.05	0.2	0.07	0.2	0.07
Lys	0.3	0.06	0.3	0.06	0.4	0.14	0.4	0.11	0.4	0.25	0.4	0.22
Arg	0.6	0.36	0.6	0.35	0.6	0.26	0.6	0.30	0.7	0.38	0.7	0.4
Cys	0.2	0.03	0.2	0.03	0.2	0.11	0.2	0.09	0.3	0.11	0.3	0.1
Met	0.1	0.02	0.1	0.02	0.1	0.06	0.1	0.05	0.1	0.09	0.1	0.08

Cr_2O_3 – chromic oxide; AIA – acid insoluble ash

In all tested diets, we found the highest endogenous ileal flow for proline and the lowest one for methionine. The same results were found when we compared Cr_2O_3 with AIA. Contrary to our results, Fan and Sauer (2002) reported the highest endogenous ileal flow for glutamic acid and the lowest one for tryptophan in diets based on different barley samples.

The works focused on the comparison of Cr_2O_3 and AIA as digestibility markers were carried out in some digestibility experiments (Scott and Hall, 1988; Bakker and Jongbloed, 1994), including those estimating ileal endogenous flow of AA and N (Fan and Sauer, 2002). Some workers (Bakker and Jongbloed, 1994) reported that AIA is not suitable for evaluation of the nutrient digestibility because of higher variability of digestibility values estimated using AIA in comparison with chromic oxide. De-

spite of this reason, Scott and Hall (1988) reported more reliable values for ileal digestibility estimated using AIA as compared with chromic oxide. When we use the acid insoluble ash as digestibility marker we must take in to account the different content of ash in equal feeds (Wünsche et al., 1991), and different content of minerals added in the feed allowance.

In agreement with our results, Van Leeuwen (1996) also found no different values of ileal digestibility for dry matter and total nitrogen when compared chromic oxide and AIA as digestibility markers. Contrary to these results, Fan and Sauer (2002) and Köhler et al. (1990) reported different values of ileal digestibility when compared different digestibility markers. True ileal AA digestibility coefficients and endogenous CP and AA outputs were higher using Cr_2O_3 in comparison with AIA (Fan and Sauer, 2002). These inconsistent reports are probably due to the different content of fibre in experimental diets. Van Leeuwen (1996) used diets with low fibre content which might prevent the separation of solid and fluid compound of ileal digesta. Homogeneity of ileal digesta is higher in diets with low content of fibre than in diets with higher content of fibre. Also in our study we used synthetic diets with low content of fibre. In the study of Fan and Sauer (2002), the pigs were fed barley diets with high fibre content and also Köhler et al. (1990) used fiber-enriched diets fed to pigs. The reason for different digestibility values estimated using different digestibility markers is the fact that the fibre passes through the digestive tract nearly intact and consequently absorbs a higher amount of water. As a result, fluid and solid parts of ileal digesta are separated. Chromic oxide is contained in the fluid part of ileal digesta such as soluble fractions of barley samples. These fractions have probably higher nitrogen and amino acid digestibility. Acid insoluble ash is fraction of aleurone layers that are characterized with lower nitrogen and amino acid digestibility. The higher ileal digestibility coefficients estimated using chromic oxide in comparison with acid insoluble ash were probably due to the fact that the majority of endogenous compounds was present in the fluid part of ileal digesta (Fan and Sauer, 2002). This is in agreement with Köhler et al. (1990) who reported the same results when the pigs were fed barley diets supplemented with fibre. The coefficients of ileal digestibility of nitrogen and amino acids estimated by chromic oxide were substantially higher in comparison with acid insoluble ash. These results suggested that fluid and solid constituents of ileal digesta were at least partly separated in that case. It is assumed that chromic oxide is representative part of fluid compounds of ileal digesta which contain fractions with higher nitrogen and amino acids digestibility.

The calculations of ileal digestibility are generally based on the assumption that fluid and solid compounds are equally distributed in ileal digesta.

Conclusion

Based on our results as well as those from the literature, we conclude that in digestibility studies using low-fibre diets, acid insoluble ash is a reliable marker, comparable with Cr_2O_3 . If the diets with high content of fibre are used, liquid and solid part of ileal digesta may be separated. This may result in higher values of ileal digestibility of amino acids and nitrogen estimated using Cr_2O_3 in comparison with AIA.

Acknowledgements

This article was written during realization of the project "BELNUZ No. 26220120052" supported by the Operational Programme Research and Development funded from the European Regional Development Fund."

References

AOAC 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 14th ed. Washington

- Bakker G.C. and Jongbloed A. W. 1994. The effects of housing system on apparent digestibility in pigs, using the classical marker techniques, in relation to dietary composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 64, 107-115
- Fan M.Z. and Sauer W.C. 2002. Determination of true ileal amino acid digestibility and the endogenous amino acid outputs associated with barley samples for growing-finishing pigs by the regression analysis technique. *Journal of Animal Science*. 80, 1593-1605
- Gracia M.I., Aranibar M.J., Lázaro R., Medel P., Mateos G.G. 2003. Amylase supplementation of broiler diets based on corn. *Poultry Science*. 82, 436-442
- Jongbloed A.W., Bakker J.G., Goedhart P.W., Krol-Kramer F. 1991. Evaluation of chromic oxide and the Hclinsoluble ash as markers for measuring overall apparent digestibility of some dietary nutrients for pigs. In *Proceedings of the fifth international symposium on digestive physiology in pigs* (ed. M. W. A. Verstegen, J. Huisman and L. A. Hartog), pp. 325-329. Pudoc, Wageningen
- Köhler T., Huisman J., Den hartog L.A., Mosenthin R. 1990. Comparison of different digest methods to determine the apparent digestibilities of nutrients at the terminal ileum in pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 53, 465-475
- Lázaro R., García M., Medel P., Mateos G.G. 2003b. Influence of enzymes on performance and digestive parameters of broilers fed rye-based diets. *Poultry Science*. 82, 132-140
- Mc Carthy J.F., Aherne F.X., Okai D.B. 1974. Use of HCl insoluble ash as an index material for determining apparent digestibility with pigs. *Canadian Journal of Animal Science*. 54, 107-109
- Peddie J., Dewar W.A., Gilbert A.B., Waddington D. 1982. The use of titanium dioxide for determining apparent digestibility in mature domestic fowls (*Gallus domesticus*). *Journal of Agriculture Science*. 99, 233-236
- Saha D.C., Gilbreath R.L., 1993. A modified chromic oxide indicator ratio technique for accurate determination of nutrient digestibility. *Canadian Journal of Animal Science*. 73, 1001-1004
- Sales J., Janssens G.P.J., 2003a. Acid-insoluble ash as a marker in digestibility studies: a review. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 12, 383-401
- Scott T.A., Hall J.W. 1988. Using acid insoluble ash marker rations (diet: digest) to predict digestibility of wheat and barley metabolizable energy and nitrogen retention in broiler chicks. *Poultry Science*. 77, 674-679
- Sprinkle J.E., Kress D.D., Doornbos D.E., Anderson D.C., Tess M.W., Ansoategui R.P., Olson B.E., Roth N.J. 1995. Chromic oxide contamination of pasture previously used in marker studies. *Journal of Range Management*. 48, 94-197
- Van Leeuwen P., Veldan A., Boisen S., Deuring K., Derksen G. B., Verstegen M. W. A. and Schaafsma, G. 1996. Apparent ileal dry matter and crude protein digestibility of rations fed to pigs and determined with the use of chromic oxide (Cr2O3) and acid-insoluble ash as digestive markers. *British Journal of Nutrition*. 76, 551-562
- Williams C.H., David D.J., Lismoa O. 1962. The determination of chromic oxide in fecal samples by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of Agriculture Science*. 59, 381-390
- Wünsche J., Borgmann E., Hennig U., Kreienbring K., Bock H.D. 1984. Application of the HCl-insoluble ash as an indicator for the determination of nutrient, including amino acid, digestibility at the end of the small intestine and the whole digestive tract of pigs. *Archives of Animal Nutrition*. 12, 817-831

Corresponding author

Matej Brestenský
Animal Production Research Centre Nitra
Hlohovecká 2
95141 Lužianky, Slovak Republic
E-mail: m_brestensky@cvzv.sk

Feed imbalances leading to laminitis and endotoxaemia in horses

Nicole Reisinger, Simone Schaumberger and Gerd Schatzmayr

Biomim Research Center, Tulln, Austria

Introduction

Endotoxins play an important role in the pathogenesis of several equine diseases; one reason for this is that horses seem to be relatively sensitive to effects caused by endotoxins, also known as lipopolysaccharides (LPS). LPS can lead to vascular dysfunction, which plays a key role in the development of endotoxaemia and laminitis in horses.

Endotoxins

LPS is a structural component of the outer cell wall of Gram-negative bacteria, which is released during bacterial growth and following bacterial lysis. It consists of an O-specific polysaccharide side-chain and a lipid component (Figure 1). The toxic and nonvariable part is the lipid-A. It enters the blood circulation through a stressed intestine with a damaged mucosal barrier. The lipid-A interacts with a complex of cell receptors (CD14, Toll-like receptor 4) located on the surface of phagocytes, which lead to the activation of pro-inflammatory cytokines (IL-6 and TNF-alpha).

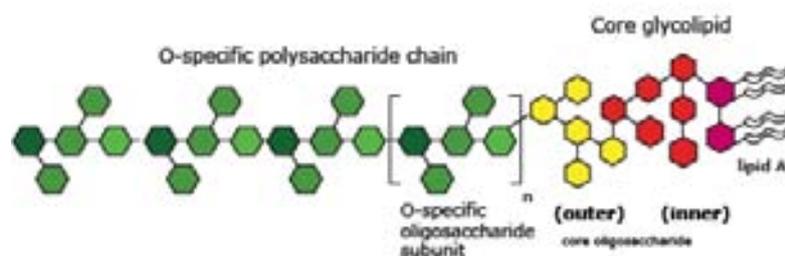


Figure 1: Structure of lipopolysaccharide

Endotoxaemia

Endotoxaemia, commonly associated with gastrointestinal disorder which causes colic in adult horses and sepsis in foals, is a leading cause of morbidity and mortality in horses. Except from a septic infection, endotoxaemia is a consequence of an already existing illness or a capacity overload.

25% - 35% of horses presented with colic and 50% of neonatal foals presented with suspected septicemia are endotoxaemic.

When endotoxins enter the blood circulation through a mucosal barrier failure, multiple inflammatory mediator cascades are initiated, that result in tissue destruction and organ failure, which leads in the worst case to death of the horse.

LPS activates macrophages and macrophage-derived cytokines are responsible for many of the pathophysiologic consequences of endotoxaemia (Morris, 1991).

Clinical signs of endotoxaemia are hyperemic or discolored mucous membranes, alterations in capillary refill time, decreased gastrointestinal sounds, fever, increased heart and respiratory rates, reduced strength of the arterial pulse and evidence of dehydration.

Endotoxaemia in the absence of an underlying intestinal disease causes horses to exhibit signs of mild or moderate abdominal pain or depression.

The numerous feedback loops and cascades of mediators during endotoxaemia defy simplistic methods of treatment (Morris, 1991). Therefore, it is important to prevent the disease.

Laminitis

Laminitis is the most serious disease of the equine foot, and is one of the leading causes of death in horses. Therefore, it has significant influence on the horse industry (Bailey, 2005).

Unfortunately, the trigger factors and the pathology of the disease are yet not fully understood.

There are a lot of predisposing factors, conditions (obesity) and diseases (equine metabolic syndrome, Cushing syndrome), which can influence the pathogenesis of laminitis.

When horses ingest a high amount of carbohydrates (starch, sugar and fructan), the horse cannot digest all of the carbohydrates in the foregut, therefore the excess moves on to the hindgut and ferments in the cecum. This causes a rapid proliferation of bacteria (*Streptococcus bovis*, *Streptococcus equinus* and *Lactobacillus* spp.), which consequences in death of Gram-negative bacteria (family Enterobacteriaceae), and leads to the release of endotoxins (Figure 2). Due to increased gut permeability caused by irritation of the gut lining by increased acidity, endotoxins can be absorbed into the bloodstream, together with other toxins, such as exotoxins. This release can result in impaired circulation, particularly in the feet.

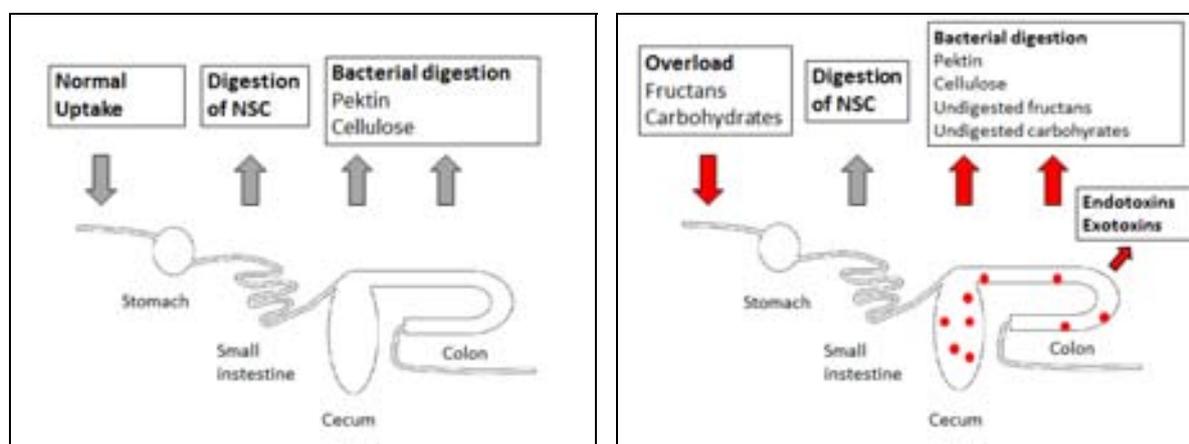


Figure 2: Normal digestion of carbohydrates (left) and overload of carbohydrates or fructans (right) in the equine intestinal tract.

During laminitis, the lamellae (Figure 3) are weakened or destroyed; therefore, they cannot support the weight of the horse anymore and the pedal bone rotates or sinks.

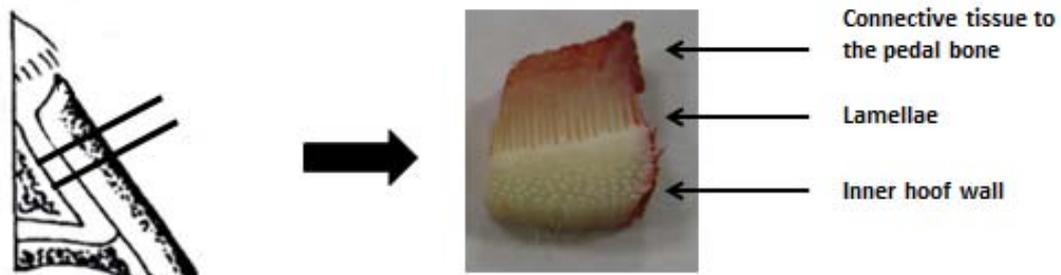


Figure 3: Schematic view of a hoof (left; Pollitt et al., 1996). Lamellae and surrounding tissue of the hoof (right).

Histological changes to the secondary epidermal lamellae, basal cells and basement membrane can be observed during the onset of laminitis. The histological grading system of these changes (grade 1-3) reflects increasing separation and lysis of the basement membrane, along with its connective tissue, between the secondary epidermal lamellae (Pollitt, 2008).

Grade 1: The lamellar basal and parabasal cells lose their normal shape and appear to slide over one another. The basal cell nuclei become rounded and take up an abnormal position in the cytoplasm of the cell, close to the basement membrane. The basement membrane between the secondary epidermal lamellae (SEL) bases is still in its normal position, close to the primary epidermal lamella.

Grade 2: The basement membrane is no longer attached to the basal cells. The lamellar basement membrane begins to disappear at the bases of the SELs. The basement membrane retracts from between the SELs and takes with it the connective tissue.

Grade 3: Total basement membrane separation from the epidermal lamellae occurs. The connection of the epidermal lamellar cells with the dermal connective tissue is lost. With advanced degree of separation the distance between hoof and distal phalanx increases.

The increase of the matrix metalloproteinase (MMP) activity seems to play an important role in this process, and causes an enzymatic damage of the hoof lamellar dermal-epidermal interface; additionally, interleukins (TNF- α , IL1- β , IL-6) are involved in the development of the disease.

The role of MMPs in the pathology is not fully understood, and other host proteases and degradation of alternative lamellar matrix components need to be investigated (Visser and Pollitt, 2012).

Fructans

A survey in the United States reported (USDA-NAHMS, 2000) that the majority of laminitis cases (about 45%) are attributed to grass. When horses are grazing on pasture containing high levels of non-structural carbohydrates (NSC), the horse cannot digest all of the fructans, which leads to a sugar overload and this can lead to the release of toxins.

Fructan can suddenly reach very high concentrations in the stems of grass and trigger a laminitis inducing gastrointestinal disturbance.

The level of sucrose and fructans fluctuate daily in pasture, and can be influenced by several environmental factors including temperature, light density, soil fertility, water availability, nutrient availability, developmental and genetic characteristics.

Grass uses sunlight during photosynthesis to produce energy in the form of sugars. When there is no sunlight available the plants have to use the sugar which was produced during the previous day. Therefore, sugar content is expected to be lowest in the dawn.

Normally fructans and sucrose exists in a normal balance; environmental stress factors cause sucrose to be used at a faster rate.

Another important fact is that the grass stores fructans in the lower portion of grass plant, so closely related pasture will be higher in fructans. In the night, the temperature is usually lower; therefore, the grass growth slows down and more fructans are accumulated.

So the optimum growth conditions for grass will result in lower NSC (starch, sugar and fructan), and vice versa stressed grass will contain more NSC (Figure 4).

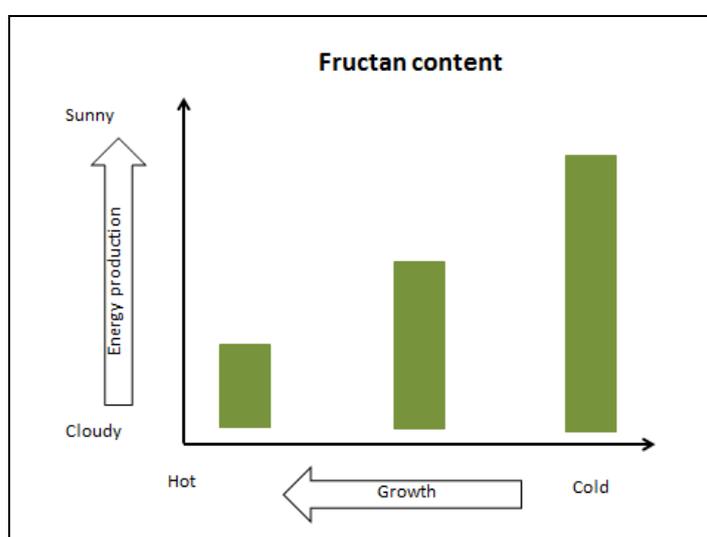


Figure 4: Schematic overview of fructan level in grass dependent on temperature and weather (Bingold, 2011).

Especially for horses that have already experienced repeated episodes of laminitis or horses which are predisposed to other trigger factors (e.g. metabolic disease, obesity), the fructan level can have severe effects on the health of the horse.

Conclusion

There are several resources of endotoxins, and many additional factors can stimulate endotoxin-associated diseases like stress, wrong feed formulation, gut lesions only to name a few. It is important to prevent endotoxins to reach the blood circulation and cause an increase of pro-inflammatory cytokines. Maintenance of the gut function with the right feed formulation is another important point; it helps to establish a stable gut barrier. Also inhibiting overgrowth of LPS producing bacteria and neutralizing them before they interact with inflammatory cells is essential for a succeeding treatment or prevention of endotoxin related disease like laminitis or endotoxaemia.

References

- Bailey, S. 2005. The cost of laminitis: Implications for equine health and welfare and economic importance. Applying Equine Science: Research into Business Conference. UK. Proceedings Page 6
- Bingold, C.A. 2011. Hufrehe . In: equivetinfo. <http://equivetinfo.de/html/hufrehe.html>
- Morris, D.D. 1991. Endotoxemia in horses. A review of cellular and humoral mediators involved in its pathogenesis. J Vet Intern Med. 1991 May-Jun;5(3):167-81
- Pollitt, C.C. 2008. Equine laminitis -Current concepts. RIRDC Publication No 08/062
- Pollitt, C.C. 1996. Basement membrane pathology: a feature of acute equine laminitis. Equine vet. J. 28, 38-46
- USDA-NAHMS. 2002. Lameness and laminitis in US horses. Fort Collins, CO: National Animal Health Monitoring System
- Van Eps, A.W. and C.C. Pollitt. 2006. Equine laminitis induced with oligofructose. Equine Vet J. 2006 May;38(3):203-8
- Visser, M. B. and Pollitt, C. C. 2012. The timeline of metalloprotease events during oligofructose induced equine laminitis development. Equine Veterinary Journal, 44: 88-93

Corresponding author

Nicole Reisinger DI
BIOMIN Holding GmbH
BIOMIN Research Center
Technopark 1
3430 Tulln, Austria
E-Mail: Nicole.Reisinger@biomin.net

Messung des Körperfettgehalts von Milchkühen mit Bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA)

Mariana Steyer¹, Thomas Ettle¹, Hubert Spiekers¹ und Markus Rodehutscord²

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft

² Universität Hohenheim, Institut für Tierernährung

Einleitung

Die Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) ist eine im Humanbereich etablierte Methode zur Messung der Körperzusammensetzung. Dabei wird der Widerstand des Körpers gegen einen schwachen Wechselstrom gemessen und über das Volumen auf den Gesamtkörperwasser- bzw. -fettgehalt geschlossen. Für die objektive Beurteilung des Körperfettgehalts von Milchkühen steht zurzeit hauptsächlich die Messung der Rückenfettdicke zur Verfügung. Eine für Versuchszwecke ausreichende Genauigkeit der Messung der Rückenfettdicke wird allerdings angezweifelt (Steyer et al., 2010). In der vorliegenden Studie sollte daher geprüft werden, inwieweit die nicht invasive Methode der BIA bei ausgewachsenen Milchkühen zur objektiven Ermittlung des Körperfettgehalts eingesetzt werden kann.

Material und Methoden

Für den Versuch wurden 30 nicht-tragende Kühe der Rasse Fleckvieh (≥ 2 . Laktation) gezielt selektiert, um eine weite Bandbreite an Körperkonditionen abzudecken. Der Body Condition Score (BCS) der Tiere erstreckte sich dabei von 1,75 bis 5,00 (Mittelwert \pm SD: $3,75 \pm 0,74$). Ein Teil der Kühe ($n=22$) war laktierend und hatte im Mittel 195 ± 128 Laktationstage (52 – 524).

Die Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) wurde im Anschluss an die morgendliche Melkung durchgeführt. Die Tiere hatten Zugang zu Tränkwasser, bekamen aber am Tag der Messung kein Futter mehr vorgesetzt. Da die Fixierung mit Metallgittern und die Beschaffenheit des Untergrunds keinen Einfluss auf die BIA haben (Thompson et al., 1997), wurde die Messung direkt am Kuhplatz im Anbindestall durchgeführt und die Tiere im Fressfanggitter arretiert. Ein Kontakt zwischen Stalleinrichtung und Kuh innerhalb der Messstrecken wurde allerdings ausgeschlossen. Für die BIA wurde ein Multifrequenz-Impedanzanalysator (BIA 2000 M, Data Input GmbH, Frankfurt/Main, Germany) verwendet. Das Gerät erzeugt über zwei Elektrodenpaare (tetrapolar) ein schwaches Stromfeld im Körper und misst die Resistanz (Wirkwiderstand, R), den Widerstand des elektrolythaltigen Gesamtkörperwassers, sowie die Reaktanz (Blindwiderstand, X_C), ein Maß für die Kondensatoreigenschaft der Zellmembranen. Die Impedanz (Z) errechnet sich dann aus der geometrischen Addition der beiden Teilwiderstände ($Z = \sqrt{R^2 + X_C^2}$).

Insgesamt wurden 5 verschiedene Elektrodenplatzierungen (Messpunkte) geprüft, welche alle auf der rechten Körperhälfte lagen. Zwei Messpunkte wurden dabei aus der Literatur übernommen (Berg und Marchello, 1994; Thompson et al., 1997). Die einzelnen Messpunkte wurden vor der Messung rasiert und mit einem Papiertuch trocken gerieben. Um den Kontakt zwischen Elektrode (Einweg-Ag/AgCl-Elektroden, Bianostic AT[®]) und Haut zu optimieren, wurde eine dünne Schicht EKG-Elektrodengel (P.J. Dahlhausen & Co.GmbH, Köln) aufgetragen. Eine detaillierte Beschreibung der Platzierung der Elektroden ist Tabelle 1 zu entnehmen. Die Messung selbst wurde an allen Messpunkten mit zwei Frequenzen

(5 und 50 kHz) durchgeführt. Da die Ergebnisse vom Volumen des Körpers abhängen, wurden an den Kühen verschiedene Messstrecken (Tabelle 2) sowie die Lebendmasse (LM) erfasst. Außerdem ist die elektrische Leitfähigkeit von Materialien temperaturabhängig und besonders die Extremitäten und obere Gewebeschichten von Körpern können je nach Außentemperatur geringere Temperaturen aufweisen. Da die Messung der Oberflächentemperatur der Tiere keine zufriedenstellenden Ergebnisse lieferte, wurde alternativ die Raumtemperatur auf Höhe des Stallbodens aufgezeichnet.

Tabelle 1: Beschreibung der Elektrodenplatzierungen der verschiedenen Messpunkte

Messpunkt	Elektroden-paar	Elektrodenplatzierung
A	Cranial	Die Stromelektrode wird in mittlerer Höhe des Rumpfes, 2 cm caudal der Schulterblattgräte (Spina scapulae) befestigt, die dazugehörige Sensorelektrode 10 cm caudal daneben.
	Caudal	Beide Elektroden liegen auf gleicher Höhe wie die des cranialen Messpunktes. Die Stromelektrode wird 5 cm und die Sensorelektrode 15 cm cranial vom Ende der Kuh angebracht.
B	Cranial und caudal	Die Stromelektroden werden jeweils außen an der Vorder- und Hintergliedmaße 8 cm über den Afterklauen angebracht. Die Sensorelektroden werden jeweils 10 cm darüber platziert.
C	Cranial	In Anlehnung an Thompson et al. (1997): Die Sensorelektrode wird an der dorsalen Spitze des Schulterblattes 1 cm rechts von der Wirbelsäule befestigt, die Stromelektrode senkrecht (10 cm) darunter.
	Caudal	Die Stromelektrode wird rechts neben der Afterfalte befestigt, die Sensorelektrode 10 cm darunter auf dem Sitzbeinhöcker.
D	Cranial	In Anlehnung an Berg und Marchello (1994): Alle Elektroden werden 1 cm rechts der dorsalen Mittellinie angebracht. Die Stromelektrode 10 cm und die Sensorelektrode 20 cm caudal des letzten Halswirbels.
	Caudal	Die Stromelektrode 5 cm und die Sensorelektrode 15 cm cranial des Kreuzbeins.
E	Cranial	Die Stromelektrode wird caudal auf dem großen Höcker des Oberarmbeins (Humerus) angebracht, die Sensorelektrode 10 cm darüber.
	Caudal	Die Sensorelektrode wird auf der Hälfte der Strecke zwischen der Unterkante des Sitzbeinhöckers und dem Mittelpunkt des Fersenbeins angebracht, die Stromelektrode 10 cm darüber.

Tabelle 2: Beschreibung der erfassten Messstrecken (MS)

Messstrecke	Definition
MS I	Strecke zwischen den Sensorelektroden von Messpunkt A
MS II	Parallel zur Kuh gedachte Strecke vom Bug bis zum Ende der Kuh
MS III	Strecke zwischen den Sensorelektroden von Messpunkt C
MS IV	Strecke zwischen den Sensorelektroden von Messpunkt D
WRH	Widerristhöhe
KBH	Kreuzbeinhöhe
BU	Brustumfang

Um die Ergebnisse der BIA mit den tatsächlichen Körperfettgehalten der Kühe abgleichen zu können, wurden die Tiere im Anschluss an die Messung einer Ganzkörperanalyse unterzogen. Nach der

Schlachtung wurden die Kühe in verschiedene Fraktionen geteilt, welche gewogen, zerkleinert, homogenisiert und analysiert wurden. Anschließend wurden die Ergebnisse anteilig aufsummiert und so die Körperzusammensetzung der Tiere berechnet (Steyer et al., 2012).

Die statistische Auswertung erfolgte mittels multipler linearer Regressionsanalyse unter Verwendung der PROC REG Prozedur des Programmpaketes SAS (Version 9.2, SAS Institut, Cary, NC, USA). Die Zielgröße war dabei der in der Ganzkörperanalyse ermittelte Fettgehalt (kg) der Kühe. Zur Beurteilung der Güte der Regressionsmodelle wurde jeweils das korrigierte Bestimmtheitsmaß (r^2) verwendet.

Ergebnisse und Diskussion

In Tabelle 3 sind die LM und Fettgehalte der Kühe dargestellt. Die durch die BCS-Noten angedeutete Bandbreite an Körperkonditionen konnte durch Körperfettgehalte zwischen 2,3 und 28,9 % bestätigt werden. Auch die Variation der verschiedenen Messstrecken spiegelt die Unterschiede in den Körperformen und -konditionen wieder (Tabelle 4).

Da mittels BIA im eigentlichen Sinne der Wassergehalt eines Körpers gemessen wird, wurde zunächst der Zusammenhang zwischen Wasser- und Fettgehalt der Tiere überprüft. Die Korrelation der Parameter (%) war mit -0,993 ($P < 0,0001$) erwartungsgemäß hoch und erfüllte damit die Voraussetzung für eine präzise Berechnung der Körperfettgehalte mittels BIA.

Tabelle 3: Mittlere Lebendmasse und Fettgehalte der Kühe mit SD und Extrema.

	Mittelwert	SD	Min	Max
Lebendmasse (kg)	742	101	416	869
Leergewicht (kg)	654	106	340	804
Fett (% des Leergewichts)	17,1	5,9	2,3	28,9
Fett (kg)	116,6	52,2	9,8	231,4

Tabelle 4: Ergebnisse der erfassten Messstrecken (cm)

Messstrecke	Mittelwert	SD	Min	Max
MS I	122	9,9	104	145
MS II	166	8,6	144	178
MS III	155	6,9	142	165
MS IV	92	7,9	79	114
WRH	144	3,5	137	153
KBH	146	3,9	137	156
BU	221	12,1	183	240

Tabelle 5 zeigt die ermittelten Werte für R und X_c . Trotz der unterschiedlichen Entfernungen der Elektrodenpaare der verschiedenen Messpunkte unterschieden sich die erhobenen Werte kaum. Eine Ausnahme stellte Messpunkt B dar, bei dem die Werte der anderen Messpunkte um ein Vielfaches übertroffen wurden. Dies ist durch die Lokalisation der Messpunkte zu begründen, da R bis zu >85 % an den Extremitäten entsteht (van Marken Lichtenbelt et al, 1994) und B der einzige Messpunkt ist, bei dem die Gliedmaßen der Kühe berücksichtigt werden.

Um die beste Anpassung des statistischen Modells zu erreichen, wurden neben dem Quadrat der Strecke jeweils alle Kombinationen von Messstrecken getestet. Dabei ergaben sich für MS^2/R bessere Zusammenhänge als für MS^2/Z , daher wird auf Z nicht weiter eingegangen. Außerdem konnten die Ergebnisse der Regressionsanalyse durch das Berücksichtigen von LM, LM^2 und Temperatur zum Teil deutlich verbessert werden. In Tabelle 6 ist dazu für jeden Messpunkt und jede Parameterkombination das jeweils beste korrigierte Bestimmtheitsmaß (r^2) angegeben. Die Genauigkeit der Schätzungen der verschiedenen Messpunkte schwankte dabei von $r^2 = 0,83$ (D) bis $r^2 = 0,92$ (A). Insgesamt gab es kaum Unterschiede in der Schätzgenauigkeit von R5 und R50. Lediglich für Messpunkt A konnten signifikante Regressionsgleichungen ermittelt werden, die beide Messfrequenzen berücksichtigten. Dies ist erstaunlich, da niedrige Frequenzen eher extrazelluläres Wasser messen und hohe Frequenzen durch die Zellwände hindurch das intrazelluläre Wasser erfassen können (Kyle et al., 2004). Eine mög-

liche Erklärung wäre eine enge Korrelation zwischen intra- und extrazellulärem Wasser, was mit dem vorliegenden Datenmaterial aber nicht überprüft werden kann.

Trotz der Unsicherheiten bei der Erfassung der LM, verbessert ihre Berücksichtigung die Regression des Fettgehalts der Tiere. Die LM selbst, erklärt als einzelne Variable bereits 71,5 % der Variation des Fettgehalts. Durch den Einsatz von LM² konnte zusätzlich über alle Messpunkte hinweg eine Erhöhung der Schätzgenauigkeit erzielt werden. Auch die aufgezeichneten Temperaturen wirkten sich positiv auf die Schätzgenauigkeit der Regressionsgleichungen aus. Die Temperaturen schwankten dabei zwischen 2,8 und 22,0 °C ($\bar{\Delta} 12,6 \pm 5,6$ °C). Die Relevanz der Temperatur war zwar nur gering, aber signifikant. Damit zeigte sich, dass die Stalltemperatur einen Einfluss auf die Oberflächentemperatur der Tiere hatte und die Messung der BIA dementsprechend beeinflusste.

Tabelle 5: Resistanz (R) und Reaktanz (X_C) der Messpunkte bei den Frequenzen 5 und 50 kHz (Ω)

Messpunkt	R ₅	R ₅₀	X _{C5}	X _{C50}
A	34,9 ± 3,4	23,6 ± 7,3	5,5 ± 1,4	7,3 ± 1,0
B	215,5 ± 26,3	190,5 ± 25,1	13,1 ± 2,9	18,5 ± 3,2
C	32,8 ± 3,1	25,4 ± 3,9	4,3 ± 1,7	5,7 ± 2,1
D	32,5 ± 3,4	22,7 ± 2,1	5,2 ± 1,2	6,1 ± 1,1
E	35,3 ± 3,0	25,1 ± 3,2	5,1 ± 1,1	7,8 ± 1,0

Tabelle 6: Übersicht über die jeweils besten erzielten korrigierten Bestimmtheitsmaße (r²) der multiplen Regressionsanalyse auf die Zielgröße Fettgehalt (kg) für die Parameter MSK/R* (cm²/Ω) bei 5 bzw. 50 kHz, Lebendmasse (LM, kg), LM² und Temperatur (T, °C)

Parameter	Messpunkt				
	A	B	C	D	E
MSK/R ₅ + LM	0,78	0,77	0,83		0,81
MSK/R ₅ + LM + T	0,83	0,81	0,88	0,78	0,87
MSK/R ₅ + LM ²	0,83	0,82	0,86		0,86
MSK/R ₅ + LM ² + T	0,86	0,85	0,89	0,82	0,91
MSK/R ₅₀ + LM	0,87	0,77	0,76		0,85
MSK/R ₅₀ + LM + T	0,87	0,80	0,80	0,79	0,88
MSK/R ₅₀ + LM ²	0,89	0,81	0,80	0,79	0,88
MSK/R ₅₀ + LM ² + T	0,91	0,84	0,83	0,83	0,91
MSK/R ₅ + MSK/R ₅₀ + LM	0,91				
MSK/R ₅ + MSK/R ₅₀ + LM + T					
MSK/R ₅ + MSK/R ₅₀ + LM ²	0,92				
MSK/R ₅ + MSK/R ₅₀ + LM ² + T					

* MSK/R = Messstreckenkombination (Messstrecke × Messstrecke, jeweils die Kombination von Messstrecken mit dem größten r² für die Regression der Zielgröße Fettgehalt)/Resistenz

Insgesamt konnten für alle Messpunkte gute Schätzungen des Fettgehalts (kg) ermittelt werden (Tabelle 6). Der Weg des Stroms in Messpunkt B ist der längste durch die Kuh und müsste den Körperfettgehalt dementsprechend am besten messen. Allerdings werden die Widerstände R und X_C stark durch die Extremitäten beeinflusst, welche wiederum nur einen kleinen Beitrag zum Gesamtfettgehalt der Tiere leisten. Bei den übrigen Messpunkten handelt es sich um segmentielle Messungen. Der Stromfluss der beiden Messpunkte mit dem höchsten r² (A und E) verläuft zentral durch den Rumpf der Kühe, der auch den größten Teil der Tiere darstellt. Die Platzierung der Elektroden von Messpunkt C wurde in Anlehnung an Thompson et al. (1997) gewählt. Die Autoren erzielten mit dem beschriebe-

nen Messpunkt sehr gute Ergebnisse bei Rindern mit einer weiten Spanne in der LM und Körperkondition. So konnte bei der Regressionsanalyse mit Hilfe von MS^2/R_∞ (bei durch Extrapolation ermittelter unendlicher Frequenz), LM und Geschlecht ein r^2 von 0,99 für die Schätzung des Wassergehalts erzielt werden. Die Präzision der Messung ist damit ~10 % besser als in der vorliegenden Studie. Die Berechnung des R bei unendlicher Frequenz war mit dem BIA-Gerät der vorliegenden Studie nicht möglich. Der verwendete Impedanzanalysator kann mit 100 kHz messen, allerdings ist eine Verbesserung der Ergebnisse bei höherer Frequenz unwahrscheinlich, weil die bei 50 kHz erzielten Werte schon zu geringfügig schlechteren r^2 führen als die der Messung bei 5 kHz. Für Aussagen, die den Fettgehalt betreffen, scheint daher die Messung des extrazellulären Wassers ausreichend. Eine Verbesserung der Messgenauigkeit mit der Frequenz 100 kHz müsste dennoch überprüft werden. Eine zweite Erklärung für die schlechteren Zusammenhänge der BIA-Daten und dem Körperfettgehalt sind die eingesetzten Elektroden. Thompson et al. (1997) verwendeten Nadelelektroden, während im vorliegenden Versuch Klebelektroden eingesetzt wurden. Nach Hall et al. (1989) sind Impedanz-Messungen an Ratten mit Nadelelektroden stabiler und genauer (Variationskoeffizient, VK = 2,0 %) als mit Folien-Elektroden, die aufgeklebt werden (VK = 8,5 %). Mit den im vorliegenden Versuch eingesetzten Klebe-Elektroden konnte ein mittlerer VK von 6,22 % erzielt werden. Sie haben den Vorteil, dass sie nicht invasiv sind. Berg und Marchello (1994) ermittelten für den Einsatz der BIA bei 50 kHz bei Lämmern (\varnothing 55,1 ± 4,95 kg LM) für die Messung der fettfreien Masse ein r^2 von 0,78. Die dabei verwendete Elektrodenplatzierung wurde in der vorliegenden Studie mit Messpunkt D nachempfunden, für den ein höheres r^2 ermittelt werden konnte (0,83). Insgesamt gestaltet sich der Vergleich der Schätzgenauigkeiten der BIA-Ergebnisse schwierig, da weder Thompson et al. (1997) noch Berg und Marchello (1994) den reinen Fettgehalt (kg) ermittelt haben.

Tabelle 7: Ergebnisse der Regressionsgleichungen der Messpunkte A, C und D jeweils unter Verwendung Messpunkt-fremder Messstrecken (*) und Messpunkt-eigener Messstrecken (°)

Messpunkt	Fettgehalt [kg] =	r^2	RMSE [†] (kg)
A*	$85,870 + 0,283 \times KBH \times MS \text{ III}/R_5 - 0,354 \times KBH \times MS \text{ III}/R_{50} + 0,00033463 \times LM^2$	0,921	14,68
A°	$53,852 + 0,383 \times MS \text{ I} \times WRH/R_5 - 0,438 \times MS \text{ I} \times WRH/R_{50} + 0,00035181 \times LM^2$	0,914	15,36
C*	$29,940 - 0,369 \times KBH \times MS \text{ IV}/R_5 + 0,00036518 \times LM^2 + 2,718 \times T$	0,887	17,59
C°	$30,248 - 0,183 \times MS \text{ III}^2/R_5 + 0,00035722 \times LM^2 + 1,633 \times T$	0,882	17,95
E*	$-12,636 - 0,168 \times MS \text{ I} \times KBH/R_{50} + 0,00040603 \times LM^2 + 1,821 \times T$	0,909	15,76
E°	$21,287 - 0,167 \times WRH \times KBH/R_{50} + 0,00038465 \times LM^2 + 1,738 \times T$	0,901	16,44

KBH – Kreuzbeinhöhe (cm), LM - Lebendmasse (kg), MS – Messstrecke (cm), R_x – Resistanz bei der Messfrequenz x (Ω), T - Raumtemperatur auf Höhe des Stallbodens ($^{\circ}\text{C}$), WRH – Widerristhöhe (cm)

† Standardfehler der Schätzung ($\sqrt{\sum \text{der Abweichungsquadrate}/(n - k)}$)

In Tabelle 7 ist für die Messpunkte A, C und E die Gleichung mit dem jeweils besten r^2 angegeben. Diese wurde aus den Ergebnissen aller Kombinationsmöglichkeiten der Messstrecken für den Term MS^2/R ausgewählt. Da die Messpunkte B und D im Vergleich zu den anderen Messpunkten ungenauere Ergebnisse lieferten, werden für die betreffenden Punkte keine Regressionsgleichungen angegeben. Die genaue Erfassung der Strecken ist von großer Bedeutung für die Messgenauigkeit (Thompson et al., 1997). Da es relativ aufwendig ist, die MS eines Messpunkts zu lokalisieren, der nicht gemessen wird, wurden in Tabelle 7 zusätzlich Gleichungen angegeben, bei denen MS anderer Messpunkte nicht erfasst werden müssen. Die Genauigkeit der Schätzungen ist dabei nur geringfügig schlechter. Die einzige Messstrecke, die nicht bei den Regressionen verwendet wurde, war der Brustumfang. Dies ist erstaunlich, da er die angenommene Zylinderform des Kuhrumpfes am besten wiedergeben müsste. Zwar ergaben sich unter Einsatz des Brustumfangs auch signifikante Zusammenhänge der Mes-

sung zum Fettgehalt, die anderen Messstrecken konnten das Volumen der Kühe aber genauer beschreiben.

Schlussfolgerungen

Insgesamt konnte ein enger Zusammenhang zwischen den Messwerten der BIA und dem gemessenen Gesamtfettgehalt der Tiere festgestellt werden. Damit kann die BIA als nicht invasive Methode, die am lebenden Tier durchgeführt werden kann, bei ausgewachsenen Fleckviehkühen zur objektiven Ermittlung des Fettgehalts eingesetzt werden. Die genauesten Ergebnisse für die Schätzung des Fettgehalts (kg) der Kühe konnten dabei mit Messpunkt A unter Verwendung der Daten beider Messfrequenzen (5 und 50 kHz) erzielt werden ($r^2 = 0,92$, RMSE = 14,68). Hier kann auch auf die Erfassung der Stalltemperatur verzichtet werden, welche bei den Schätzungen der anderen Messpunkte berücksichtigt werden sollte. Da es sich hauptsächlich um segmentielle Messungen handelte, sollte die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere Rassen noch geprüft werden. Zusätzlich sollte eine mögliche Verbesserung der Messgenauigkeit mit einer Messfrequenz von 100 kHz untersucht werden.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei der Firma Data Input GmbH, insbesondere bei Herrn Dr. Käsebieter, für die Leihgabe des Multifrequenz-Impedanzanalysators und für die Unterstützung bei der Messung.

Literatur

- Berg E.P. und Marchello M.J. (1994): Bioelectrical impedance analysis for the prediction of fat-free mass in lambs and lamb carcasses. *J. Anim. Sci.*, 72:322-329
- Hall C.B., Lukaski H.C. und Marchello M.J. (1989): Estimation of rat body composition using tetrapolar bioelectrical impedance analysis. *Nutr. Rep. Int.*, 39:627-633
- Kyle U.G., Bosaeus I., De Lorenzo A.D., Deurenberg P., Elia M., Gómez J.M., Lilienthal Heitmann B., Kent-Smith L., Melchior J.-C., Pirlich M., Scharfetter H., Schols A.M.W.J. und Pichard C. (2004): Bioelectrical impedance analysis - part I: review of principles and methods. *Clin. Nutr.*, 23:1226-1243
- Steyer M., Ettle T., Spiekers H. und Rodehutschord M. (2010): Zum Zusammenhang von Energiebilanz und der Veränderung von Rückenfettstärke und Körperkondition bei Fleckviehkühen. In: Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda 2010, Herausgeber: Verband der Landwirtschaftskammern, Bonn, 49-53
- Steyer M., Ettle T., Spiekers H. und Rodehutschord M. (2012): Body composition of Simmental cows and the relation of fat content to body condition parameters. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 21, in Druck
- Thompson B.C., Thomas B.J. Ward L.C. und Sillence M.N (1997): Evaluation of multifrequency bioelectrical impedance data for predicting lean tissue mass in beef cattle. *Aust. J. Exp. Agr.*, 37:743-749
- Van Marken Lichtenbelt W. D., Westerterp K.R., Wouters L. und Luijckendijk S.C.M. (1994): Validation of bioelectrical-impedance measurements as a method to estimate body-water compartments. *Am. J. Clin. Nutr.*, 60:159-166

Autorenanschrift

Mariana Steyer
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
Prof.-Dürrwachter-Platz 3
85586 Poing/Grub
e-Mail: mariana.steyer@lfl.bayern.de

LikeMeat – Vom Nischenprodukt zur akzeptierten Alternative

**Katharina Dusini, Raphaela Filipp, Katrin Leutgeb, Marija Zunabovic,
Wolfgang Kneifel und Konrad J. Domig**

Institut für Lebensmittelwissenschaften und –technologie, Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie, Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Im Rahmen des EU Projekts „LikeMeat“ wird von Klein- und Mittelbetrieben (KMU) in Zusammenarbeit mit Forschungseinrichtungen die Entwicklung von Proteinextrudaten als Eiweißalternative zu Fleisch ermöglicht. Das langfristige Ziel dabei ist, die pflanzliche Proteinalternative „LikeMeat“ von einem Nischenprodukt ausgehend zu einer breit akzeptierten Alternative zu entwickeln (LikeMeat, 2012).

Zahlreiche gesundheitliche und ökologische Gründe sprechen dafür, von einer von tierischen Proteinen dominierten Ernährung, zu einer mehr auf pflanzlichen Proteinen basierenden zu wechseln. Von Seiten der Industrie und der Konsumenten besteht zwar ein steigendes Interesse an Alternativen, allerdings ist deren Anteil am gesamten Lebensmittelmarkt immer noch sehr klein. Ein wesentlicher Grund dafür ist vermutlich, dass jene Alternativen, die derzeit am Markt zu finden sind, oft nicht den Vorstellungen der Konsumenten entsprechen. Meistens erfüllen dabei die sensorischen Eigenschaften der Produkte die Erwartungen des Konsumenten nicht. Dadurch und durch fehlende Produktinformationen entwickelt sich eine kritische und ablehnende Haltung gegenüber solchen Lebensmitteln. Um eine größere Kundenakzeptanz zu erreichen, ist es unumgänglich Produkte mit besserer Textur und optimierten sensorischen Eigenschaften zu entwickeln. Darüber hinaus ist davon auszugehen, dass diese neuen Lebensmittel einer intensiven und offensiven Informationskampagne bedürfen.

Die Europäische Union fördert mit diesem Projekt kleine und mittelgroße Unternehmen bei der Entwicklung von Produkten basierend auf pflanzlichen Proteinen und Hydrokolloiden, welche eine exzellente Textur, Saftigkeit, Aussehen, Aroma und Geschmack haben sollen. Um dieses Ziel zu erreichen, werden pflanzliche Proteine oder Gemische aus pflanzlichen und teilweise tierischen Proteinen (Milch, Ei) in fibröse Strukturen umgewandelt und stabilisiert. Für diese Umsetzung wird die Kochextrusion eingesetzt, bei der hohe Temperaturen und Scherkräfte für kurze Zeit auf die proteinreiche Matrix einwirken. Um einen optimalen Herstellungsprozess entwickeln zu können, werden die Proteinaggregation, die Interaktionen von Proteinen mit anderen Komponenten der Rezeptur und der Einfluss der Prozessparameter auf die Produktqualität genauestens erforscht. Die Ergebnisse daraus ermöglichen in weiterer Folge die Wahl von geeigneten Rohstoffen und die Optimierung der Rezepturen für die Herstellung eines qualitativ hochwertigen Endproduktes. Zusätzlich werden alle Schritte des Herstellungsprozesses, von den Rohstoffen, über die Produktion, Verpackung bis zu den Lagerungsbedingungen genauestens überwacht, um später innerhalb der Haltbarkeit des Lebensmittels eine höchstmögliche Produktsicherheit und –qualität garantieren zu können.

Um eine möglichst lange Haltbarkeit und eine hohe Produktsicherheit zu erreichen, werden die Mikrobiota der Rohstoffe und der Zwischenprodukte und die bakterizide und sporozide Wirkung des Herstellungsprozesses der Proteinextrudate untersucht (LikeMeat, 2012).

Material und Methoden

In den vergangenen 20-30 Jahren hatten vegetarische Gerichte vergleichsweise einen geringen Marktanteil. Texturiertes Sojaprotein und Nüsse bildeten meistens die Basis für diese Lebensmittel. Die Entwicklung von anderen Inhaltsstoffen für die Herstellung von Alternativen zu Fleisch, die einen verbesserten Geschmack und eine verbesserte, fleischähnliche Textur liefern, wurde durch die wachsende Nachfrage am Markt angetrieben. Mittlerweile findet man eine große Vielfalt an Produkten am Markt, basierend auf einer Vielzahl an Inhaltsstoffen wie Soja, Mycoproteine, Weizenderivate, Gemüse und Hülsenfrüchte (Tabelle 1; Sadler, 2004).

Tabelle 1: Trends in der Entwicklung von pflanzlichen Proteinalternativen

Inhaltsstoffe	~ Jahr der Einführung
Nüsse	Nach 1945
Soja (in der westlichen Welt)	1960er
Quorn™ (Mycoprotein)	1984
WheatPro™ (Weizenprotein)	1992
Arrum™ (Weizen- und Erbsenprotein)	1995
faserige Pflanzenproteine	1997

Tofu

Tofu steht stellvertretend für eine Reihe von Produkten die aus Soja hergestellt werden. Es ist ein Jahrtausend altes chinesisches Lebensmittel. Der Name des Produktes stammt allerdings aus dem Japanischen. Regulärer Tofu ist ein weißes weiches Produkt, welches gepresstem Käsebruch ähnelt. Als Ausgangsprodukt für die Herstellung dient Sojamilch, welche im ersten Schritt erhitzt wird. Durch anschließende Zugabe von einem Fällungsmittel (CaSO_4 oder Magnesiumsalze), wird das Protein gefällt. Gepresst, gekühlt und entsprechend portioniert wird das Endprodukt als Tofu verkauft. Neben regulärem Tofu gibt es noch „Kori-Tofu“, frittierten Tofu, geräucherter Tofu und fermentierten Tofu (=Su Fu).

In den USA wird Tofu schon seit über hundert Jahren als „Ethnic food“ vermarktet. Seit 1970 stieg der Konsum von Tofu in der westlichen Welt als Alternative zu Fleisch und Käse rapide an (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012).

Seitan

Seitan wird aus Weizen gewonnen. Bei der Herstellung wird die Stärke vom Weizeneiweiß getrennt. Das dabei zurückbleibende Weizengluten wird in einer Marinade aus Sojasauce, Algen und Gewürzen gekocht und erhält dadurch seine fleischartige Konsistenz. Seitan stammt wie auch Tofu aus China und Japan, wo es schon seit Jahrhunderten als Fleischalternative verzehrt wird.

Tempeh

Tempeh ist ein traditionell indonesisches Lebensmittel. Es wird durch Fermentation mit *Rhizopus* Pilzen aus gekochten und geschälten Sojabohnen hergestellt. In Japan ist Tempeh noch eher unbekannt. In den europäischen und amerikanischen Markt wurde es bereits eingeführt, stellt aber immer noch ein Nischenprodukt dar (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012).

Quorn™

Als Quorn wird ein Lebensmittel bezeichnet, das durch kontinuierliche Fermentation von *Fusarium* spp. hergestellt wird (Turnbull et al., 1993). Durch Fermentation der Pilzkultur in einer Glucose- und Mineralstofflösung bei 28°C wird ein Pilzprotein produziert (Schweizerische Gesellschaft für Ernährung sge, 2012). Dieses Protein wird anschließend abgetrennt, mit Geschmackstoffen und Hühnereiweiß (als Bindemittel) versetzt und abschließend gekocht (Turnbull et al., 1993). Aus Quorn können eine Vielzahl von Produkten hergestellt werden. Es wird allerdings vorwiegend als Alternative zu Fleisch am Markt vertrieben (Schweizerische Gesellschaft für Ernährung SGE, 2012).

Für die Produktion von neuen Fleischalternativen zu den oben genannten klassischen haben sich einige Methoden etabliert, wie z.B. Vermahlen und Pressen von Sojabohnen und Pflanzenproteinisolen bzw. die Extrusion von Sojamehl in verschiedene Größen und Formen (Filho et al., 2005).

Extrusion allgemein

Bereits seit mehreren Jahrzehnten wird die Extrusion bei der Herstellung von Lebensmitteln angewandt. Dabei handelt es sich um einen kontinuierlichen Mischungs-, Knet- und Formprozess. Heute wird dieser Herstellungsprozess vor allem wegen seiner vielseitigen Einsatzmöglichkeiten, hoher Produktivität, geringeren Kosten und Energieeffizienz vermehrt eingesetzt (Harper, 1981).

Mittels Extrusion können hochqualitative Produkte hergestellt werden. Bisher werden vor allem Frühstücksflocken, Säuglingsnahrung, Süßwaren und Tierfutter damit produziert. Der Feuchtegehalt dieser Produkte liegt dabei meist unter 40%. Ein neuerer Prozess ist die Kochextrusion mit Feuchtegehalten über 40% (Akdogan, 1999).

Bei der Kochextrusion wird im Unterschied zur Heißextrusion bei geringeren Feuchtegraden (Einfachschnecke) meistens eine Doppelschnecke verwendet (Harper 1981). Diese hat den Vorteil, dass der Massenstrom des Extrudats zwischen den Schnecken hin und her befördert wird, was den Vorwärtstransport effizienter macht (Akdogan 1999).

Kochextrusion von Pflanzenproteinen

Bei der Herstellung von Proteinextrudaten, die vorwiegend aus pflanzlichen Proteinen bestehen, wird meistens die Kochextrusion verwendet. Mit dieser Technologie entsteht eine fibröse Struktur der pflanzlichen Proteine, welche der Textur von Fleisch nahe kommt. In Abbildung 1 ist die Texturierung kurz beschrieben. Das Rohmaterial wird in Form von Proteinpulvern direkt in den Extruder dosiert und dort sofort mit Wasser vermischt (Akdogan 1999). Bei steigenden Temperaturen beginnt die Denaturierung der nativen Proteinstruktur. Nach kurzzeitig sehr hohen Temperaturen beginnt die Neuvernetzung der Proteine, wobei die Endtextur beim Abkühlen in einer deutlich ausgeprägten Kühlstrecke des Extruders ausgebildet wird (Nogouchi, 1989). Im Prozess werden Maximaltemperaturen von 100°C bis zu 150°C erreicht. Der Feuchtegehalt kann bis zu 60% und mehr betragen (Akdogan 1999).

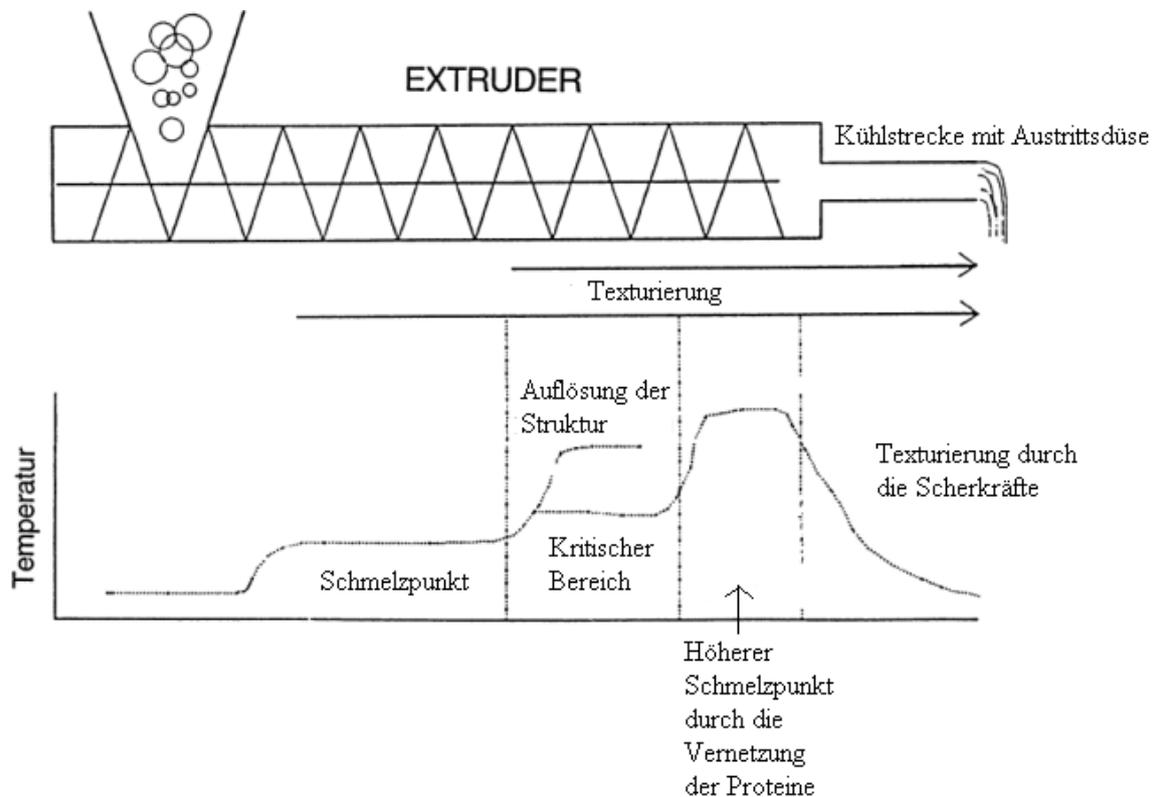


Abbildung 1: Texturierung von feuchten, proteinreichen Lebensmitteln im Extruder (Nogouchi, 1989)

Diskussion und Schlussfolgerung

Bis zum Jahr 2050 wird eine nahezu Verdoppelung des heutigen Fleischkonsums prognostiziert. Die begrenzt zur Verfügung stehenden Ressourcen (landwirtschaftliche Nutzfläche, Wasser, Energie, Dünger), hygienische Herausforderungen (Tiergesundheit und Emissionen durch weitere massive Steigerungen der Nutztierbestände) und neue Konkurrenzsituationen der Nahrungsmittelproduktion („Bioenergie“) erfordern eine intensiviertere Erforschung von Eiweißalternativen (Müller, 2011).

Des Weiteren sprechen medizinische und ernährungswissenschaftliche Gründe, neben den oben genannten ökologischen Fragestellungen, für eine Senkung des Fleischkonsums in den industrialisierten Ländern. Auf Konsumentenseite besteht gesteigertes Interesse an einem reduzierten Fleischkonsum bis hin zu einer ausschließlich vegetarischen Ernährung oder ähnlichen Ernährungsmodellen (Sadler, 2004). Der angesprochene Gesundheitsaspekt der vegetarischen Ernährungsweise ist in den meisten Fällen auf einen höheren Anteil an Ballaststoffen, Früchten und Gemüse im Speiseplan zurückzuführen. Diese Form der Ernährung korreliert mit einem geringeren Erkrankungsrisiko für kardiovaskuläre Krankheiten und Krebs (BNF, 2003).

Das steigende Konsumenteninteresse für fleisch-freie Mahlzeiten als Teil einer ausgewogenen Ernährung bzw. für vegetarische Ernährungsformen erfordert die Entwicklung hochwertiger pflanzlicher Eiweißalternativen, um die entsprechenden Konsumentenansforderungen erfüllen zu können (Sadler, 2004).

Literatur

- Akdogan H. (1999): High moisture food extrusion. *International Journal of Food Science and Technology* 34, 195-207
- BNF (2003): *Plants: Diet and health. Report of the British Nutrition Foundation Task Force*, Blackwell Science
- Food and Agriculture Organisation of the United Nations, FAO (2012) <http://www.fao.org/docrep/t0532e/t0532e10.htm#9.4>
- Filho G. S. C., Vessoni Penna T. C. and D.W. Schaeffner (2005): Microbiological quality of vegetable proteins during the preparation of a meat analog. *Italian Journal of Food Science* 17, 269-283
- Harper, J. M. (1981): *Extrusion of foods*. Boca Raton: CRC Press, Inc. 1, 21-45
- LikeMeat (2012) <http://www.likemeat.eu/>
- Müller, C. (2011) Die Zukunft der Ernährung – Der lange Abschied vom Fleisch. *FUTURE Das Zukunftsmagazin der Wiener Zeitung* 8, 10-11
- Noguchi A. (1989): High moisture protein foods. In: *Extrusion cooking* (edited by Mercier C., Linko P. & J., Harper M.) 343-370. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists
- Sadler M. J. (2004): Meat alternatives – market developments and health benefits. *Trends in Food Science & Technology* 15,250-260
- Schweizerische Gesellschaft für Ernährung, SGE (2012) <http://www.sge-ssn.ch/ratgeber-und-tests/ratgeber/ihre-fragen-unsere-antworten/lebensmittel/diverses/cornatur.html>
- Turnbull, W.H., Walton, J. and Leeds, A.R. (1993): Acute effects of mycoprotein on subsequent energy intake and appetite variables. *American Journal of Clinical Nutrition* 58: 507-512

Autorenanschrift

Katharina Dusini
BOKU – Universität für Bodenkultur
Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie
Institut für Lebensmittelwissenschaften
Muthgasse 18, 1190 Wien
E-Mail: katharina.dusini@boku.ac.at

Die wechselvolle Geschichte lebensmittelrechtlicher Normen, Qualitätsanforderungen und Bezeichnungen von pasteurisierter Trinkmilch

Helmut Foissy

Institut für Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie, Inter-universitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien

Im Beobachtungszeitraum von etwa einem Jahrhundert, beginnend von ~1910, unterlag die „Pasteurisierte Trinkmilch/Konsummilch“ (Kuhmilch) einer Vielzahl von Variationen bei der Qualitätsdefinition und -kontrolle, wozu nicht zuletzt auch die Kreation von Spezialmilchsorten (Kindermilch, Frischmilch, Schulmilch, Biomilch) beitrug. Pasteurisierte Trinkmilchsorten anderer Tierarten und unter speziellen Auflagen aufgrund religiöser Riten gewonnene Milch blieben jedoch unberücksichtigt, weil diese in Österreich nur relativ kleine Marktsegmente umfassen.

Die Verbesserung der hygienischen Wertigkeit von Trinkmilch im genannten Zeitraum ist eindrucksvoll. Dies sowohl aufgrund kontinuierlich strenger gewordener Auflagen im Rahmen der Rohmilchqualitäts-gewinnung als auch infolge geänderter end-produktspezifischer Anforderungen, die mit massiver Unterstützung durch innovative technologische Entwicklungen auf die Minimierung von Verunreinigungen, den Wertigkeitserhalt und die Vermeidung mikrobieller Rekontaminationen bei der Trinkmilchbearbeitung und -abfüllung abzielten.

Den rechtlichen Rahmen hierfür lieferten die österreichischen milchspezifischen Marktordnungsgesetze, Verordnungen und Erlässe auf Basis von Gutachten und Vorschlägen der Milchkodexkommission (via Plenum des Lebensmittelkodex) oder von anderen mit Milchqualität befassten Behörden, Institutionen und Lebensmittelkontrollinstanzen. Ab etwa 1990 brachte die Orientierung an einschlägige Richtlinien und Verordnungen der Europäischen Union zusätzliche Regulative ein.

Vor allem die EU-einheitlichen Probenahme- und Analysenkonzepte (2- und 3-Klassenpläne, Konkretisierung der Prüfungszeitpunkte, Standardisierung der Probenvorlagerung) sowie die neuen mikrobiologischen Normen hatten erhebliche Auswirkungen auf die Hygienekonzepten bei pasteurisierter Trinkmilch.

Deutlich wird im Rückblick aber auch ersichtlich, dass der Österreichische Milchwirtschaftsfonds von seiner Gründung bis 1993 und daran anschließend die Nachfolgeorganisation Agrarmarkt Austria (AMA) federführend an der Definition und Hochhaltung der Qualität pasteurisierter Trinkmilch - dem Erkenntnisstand der jeweiligem Zeit angepasst und teilweise über die Grundanforderungen der Lebensmittelgesetze hinausgehend - verantwortlich war und ist.

Zweifellos werden auch in Zukunft höchstmögliche Reinheit und der Erhalt ernährungsphysiologischer Hochwertigkeit von Trinkmilch - trotz der erforderlichen technologischen Schritte im Sinne der Absicherung vor Risikokeimen und des Erreichens marktkonformer Haltbarkeiten - im Fokus von Wissenschaft und Praxis stehen.

Der komplette Beitrag ist im Buch von *M. Klug, J. Vas: Ein Streifzug durch die österreichische Milchwirtschaft, Band II, 1 – 56 (Trauner, Linz, 2011)* abgedruckt und unter folgender Adresse online einsehbar: http://www.boku.ac.at/tte-symposium/TTE/Tagungsband/Trinkmilchqualitaet_Foissy.pdf.

Unter www.ama.at/marktinformation/Milch ist mehr über das Buch als solches zu erfahren.

Element- und Spurenelementzusammensetzung von Milchpulver vom afrikanischen Markt im Vergleich mit authentischer Alpenmilch

Manfred Sager¹ und Dagmar Schoder²

¹ Elementanalytik, AGES Wien

² Institut für Milchhygiene, Veterinärmedizinische Universität Wien

Ausgangslage

Mangels ausreichender Eigenproduktion wird in Afrika Trockenmilchpulver in erheblichem Ausmaß importiert, welches von international tätigen Konzernen hergestellt und als Babynahrung verkauft wird. Die Herkunft der Milch ist nicht immer nachvollziehbar. Bei der Verarbeitung in Molkereien miteln sich Abhängigkeiten der Milchezusammensetzung von Rinderrasse und Laktationsperiode im Allgemeinen aus. Kontaminationen oder bewusste Zusätze verändern jedoch die Zusammensetzung gegenüber der ursprünglichen Rohmilch.

Seitens des Vereins „Tierärzte ohne Grenzen“ wurden in Afrika (Schwerpunkt Tanzania) 26 Milchpulverproben gezogen und zuerst darin wegen eines Anlassfalles in China Melamin bestimmt. Einige davon enthalten deklarierte Zusätze. Bei weiteren 20 Proben handelt es sich um am afrikanischen Schwarzmarkt gezogene Milchpulverproben, nämlich um Voll- oder Magermilchpulver ohne die üblichen Säuglingsnahrungszusätze (z.B. Zusatz Eisen). Während in Afrika beim Inverkehrbringen von Milch häufig Hygieneprobleme auftreten, und diese auch zuweilen untersucht werden, ist über anorganische Schadstoffe und Spurenelemente in den dort am Markt befindlichen Milchpulverproben so gut wie nichts bekannt.

Um die authentische Herkunft von Milch zu prüfen, interessiert, ob es Elementgehalte oder Elementverhältnisse gibt, die von der Gesteinsregion des Milchviehs abhängen. Parallel zu einer laufenden Studie mit Betrieben aus 4 österreichischen Regionen und 3 Rinderrassen sollte eine repräsentative Beprobung außerhalb Europas zeigen, welche Variationsbreite hier erwartet werden kann.

Zurzeit liegen Ergebnisse von Rohmilch aus der Versuchswirtschaft Moarhof (Trautenfels im Ennstal) vor. Die Milch wurde zweimal bei Winterfütterung und einmal bei Weidehaltung proportional entnommen, tiefgefroren in Kunststoffgefäßen ins Labor gebracht, gefriergetrocknet, und in gleicher Weise wie die Milchpulver analysiert. Jede Probe stammte von nur einer Kuh, mit bekannter Rasse, Abkalbedatum und Fütterung.

Arbeitsgang

Die Milchpulver wurden in mikrowellenbeheizten Druckaufschlüssen mit Salpetersäure-Flusssäure bzw. salpetersaurer Kaliumchloratlösung unterworfen, und darin sämtliche Haupt- und Spurenelemente inklusive Seltener Erden und Nichtmetalle bestimmt, ausgenommen Platinmetalle, Chlor und Brom. Ein geringer Zusatz von 0,1 ml Flusssäure hält auch Titan in Lösung. Mit salpetersaurer Kaliumchloratlösung erhält man sicher Sulfat, Jodat, sowie säurelösliches Silikat und Borsäure. Die Endbestimmungen erfolgten mit ICP-OES mit matrixangepassten Kalibrationslösungen, mit ICP-MS und internem Standard ¹¹⁵In, sowie Jod mit ICP-MS und Standardaddition.

Die Streuung der Methode wurde an Hand von "Nestle NIDO full cream milk powder" (blind) bestimmt, und beträgt für Na 2,7 %, Mg 3,8 %, Ca 6,1 %, P 7,3 %, K 9,1%.

Ergebnisse – Proben vom afrikanischen Schwarzmarkt

Vergleicht man die Bereiche der gefundenen Elementkonzentrationen, so findet man bezüglich Trockenmasse keine Unterschiede bei (alphabetisch) B-Cd-Ce-Co-Cr-K-Li-Pb-S-Tl-Zn, ebenso nicht bei den Verhältnisse Ca/Mg, P/S und Sr/Ba. Es gab also nicht die befürchteten Kontaminationen. Hingegen enthielten die in Afrika beprobten Milchpulver mehr (alphabetisch) Ba-Fe-Mg-Mn-Na-P-Sr, sowie ein höheres K/Rb Verhältnis. Hier könnte es sich zum Teil um Zusätze handeln. Hingegen lagen die afrikanischen Proben niedriger bei Al-Mo-Rb-Si-Ti, und dem Verhältnis Ca/Sr.

Bei Ca-Co-Mn-Ni war in den Alpenmilchproben der Konzentrationsbereich größer als in den aus Großmolkereien stammenden afrikanischen Proben; hier wirken sich offenbar individuelle Unterschiede zwischen den Kühen aus. Umgekehrt waren die Bereiche der Elementverhältnisse Al/Ti und Mg/Li in der Alpenmilch kleiner. Bei Cs, J, sowie dem Verhältnis K/Rb und K/Cs traten bei der Alpenmilch Unterschiede zwischen Stallhaltung (Winterfütterung) und Weidehaltung auf, die afrikanischen Proben liegen dazwischen und sind offensichtlich Mischproben davon.

Ergebnisse – Milchpulver internationaler Konzerne

Im Vergleich mit den Proben vom afrikanischen Schwarzmarkt hatten die Markenmilchpulver breitere Elementverteilungen bei vielen Elementen, wohl durch gezielte Zusätze, oder durch Eintrag bei der Verarbeitung: B-Ba-Ca-Cs-Cu-Fe-K-Li-Mg-Mn-Mo-Rb-S-Sr-Y-Zn.

5 Produkte mit deklariertem Eisenzusatz enthielten im Median 66,1 mg/kg (Bereich 36,3-77,8 mg/kg) Eisen, 18 Produkte ohne deklariertem Eisenzusatz im Median 26,9 mg/kg (Bereich 1,6-155,6 mg/kg). Da die Rohmilch aus den Alpen nur 1,50 mg/kg (Bereich 0,82-2,51 mg/kg) Eisen enthielt, wurden wahrscheinlich einige bewusste Zusätze nicht deklariert.

Ordnet man die Milchpulver nach Fettstufen, so sind kaum Unterschiede erkennbar; nur das fettfreie Produkt liegt hoch in Na-K-Mg-P.

Schlussfolgerung

Global gesehen, ist Milchpulver nicht überall gleich zusammengesetzt, sondern es gibt auch in der Elementzusammensetzung Unterschiede, die aus der Verarbeitung, beabsichtigten Zusätzen oder dem Einfluss von Standort und Fütterung zustande kommen. Als Indikatorelemente eignen sich insbesondere Rb, Cs, Ba, Sr, Li und Jod, vielleicht auch Mn und Si. Als Babynahrung verkauftes Milchpulver kann nicht deklarierte Zusätze von z.B. B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mo, Zn enthalten.

Danksagung

Hrn. Dr. Andreas Steinwider und Mitarbeitern sei für die Übersendung von Milch- und Futterproben aus dem Moarhof herzlichst gedankt. Die Proben wurden vom Verein Tierärzte ohne Grenzen kostenlos zur Verfügung gestellt.

Autorenanschrift

Univ. Doz. Mag. Dr. Manfred Sager
Elementanalytik, AGES Wien
Spargelfeldstrasse 191, 1220 Wien
E-Mail: manfred.sager@ages.at

Autorenverzeichnis

Adam, G.	300	Dusini, K.	347
Ader, P.	265	Edmunds, B.	8
Aichner, V. S.	158	Eidelsburger, U.	265
Anskienė, L.	216	Ettle, T.	42, 70, 341
Awad, W. A.	305, 312, 320	Ferreti, P.	283
Baldinger, L.	65	Fibi, S.	224
Bartelt, J.	93, 121	Figl-Wolfsberger, T.	52
Bayer, K.	224	Filipp, R.	347
Bedford, M.	249	Flachowsky, G.	1
Berthiller, F.	300	Foissy, H.	352
Bliznikas, S.	144	Foltys, V.	134
Böhm, J.	305, 312, 320	Formelová, Z.	59, 139
Bosse, A.	129	Fusconi, G.	265
Bravo, D.	174, 186, 200, 204, 283	Ganner, A.	234
Brestenský, M.	331	Geier, U.	93
Breves, G.	14	Ghareeb, K.	305, 312, 320
Brucker, L.	163	Gölß, F.	220, 224
Buckiuniene, V.	144	Gruzauskas, R.	144
Čereškienė, E.	216	Hall, R.	275
Čerešňáková, Z.	59	Hansmann, G.	121
Che, T. M.	186	Heger, J.	331
Chevaux, E.	230	Henikl, S.	257
Chrastinová, Ľ.	59, 139	Hess, M.	312
Chrenková, M.	59, 139	Hippenstiel, F.	8
Dauksiene, A.	144	Höglinger, O.	213
De Kimpe, N.	293	Hulet, M.	209
De Ondarza, M.B.	230	Humer, E.	100
Dohnal, I.	234	Iben, C.	23
Domig, K. J.	347	Ionescu, C.	174, 283
Dos Santos, T.	249	Jang, S. I.	200
Durst, L.	180, 245	Jankowski, J.	253
Dusel, G.	47, 106, 152	Jeroch, H.	253, 280, 328

Jordan, A.	209	Lobinski, R.	174
Jungbauer, L.	196	Lückstädt, C.	245
Juozaitienė, V.	216	Maddox, C. M.	186
Juozaitis, A.	216	Mair, C.	81, 121
Juśkiewicz, J.	280	Mangelinckx, S.	293
Kampf, D.	293	Matusevičius, P.	280, 328
Kern, C.	224	Moll, D.	300
Khiaosa-ard, R.	23	Morlacchini, M.	265
Kim, D. K.	200	Mösenbacher-Molterer, I.	191
Kirwan, S.	239	Muzikevičius, A.	216
Kliseviciute, V.	144	Nagl, V.	300
Klose, V.	220, 224	Nitrayová, S.	331
Kluge, H.	93	Obermaier, A.	70
Knasmüller, S.	300	Oguey, C.	186, 200, 204
Knaus, W.	65	Ondruška, Ľ.	139
Kneifel, W.	347	Park, M. S.	200
Koch, C.	47, 75, 152	Parkányi, V.	139
Kozłowski, K.	253, 280, 328	Patráš, P.	331
Kraushofer, J.	52	Paulicks, B. R.	158
Kroismayr, A.	271	Pettigrew, J. E.	186
Krska, R.	300	Philipps, P.	249, 261
Kühn, I.	261	Plachá, I.	139
Lauková, A.	139	Pogány Simonová, M.	139
Lee, K. W.	200	Poláčiková, M.	59, 139
Lee, S. H.	200	Potthast, C.	47, 152
Leiterer, M.	75	Preißinger, W.	87, 113
Leitgeb, R.	52, 121	Propstmeier, G.	87, 113
Leutgeb, K.	347	Raceviciute-Stupeliene, A.	144
Li, Q.	271	Rafay, J.	139
Liesegang, L.	17	Rajský, M.	134
Lillehoj, H. S.	200	Reisinger, N.	336
Lindermayer, H.	87, 113	Relandeau, C.	144
Lindner, P.	106	Ritzmann, M.	300
Liu, Y.	186	Rodehutscord, M.	341

Romberg, F.-J.	75, 152	Svirmickas, G.	144
Roser, U.	265	Szabóová, R.	139
Rühle, J.	180	Ten Doeschate, R. A. H. M.	249
Rutzmoser, K.	42	Theobald, P.	245
Sager, M.	353	Torreyson, S.	200
Schatzmayr, G.	234, 257, 336	Tossenberger, J.	261
Schauerhuber, C.	257	Trautwein, J.	47
Schaumberger, S.	336	Vacchina, V.	174
Schedle, K.	81, 100, 113, 121, 271	Veit, M.	191, 213
Schenkel, H.	163	Vereecken, M.	253
Schiel, K.	47	Viel, B.	275
Schlegel, P.	275	Vodnansky, M.	134
Schmidt, H.	180	Weber, T.	213
Schoch, M.	152	Weghuber, J.	213
Schoder, D.	353	Wegl, G.	220, 224
Schöne, F.	75	Wegleitner, K.	245
Schröder, B.	249, 261	Weiß, K.	170
Schwartz, H.	300	Wendler, K. R.	191, 196, 213
Segers, L.	293	Wetscherek, W.	35, 81, 287
Siegel, S.	106	Wetscherek-Seipelt, G.	287
Soares, J. A.	186	Wiedner, G.	52
Song, M.	186	Windisch, W.	158, 170
Song, W. H.	200	Winkler, A.	106
Spiekers, H.	341	Zduńczyk, P.	280
Stangl, G. I.	93	Zduńczyk, Z.	280
Stankevičius, R.	216	Zebeli, Q.	23
Steiner, T.	209	Zentek, J.	312
Steingäß, H.	75	Zentner, E.	191
Steyer, M.	70, 341	Zinner, P.	106
Stoiber, C.	234	Zollitsch, W.	65
Strnad, I.	36	Zunabovic, M.	347
Südekum, K.-H.	8, 75		

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 Hallerstraße 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



DR. ECKEL
creative solutions

Dr. Eckel GmbH
Im Stiefelfeld 10
D-56651 Niederzissen



DSM
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

DSM Nutritional Products Ltd
P.O. Box 3255
CH-4002 Basel



IPUS – Mineral- & Umwelt-
technologie GmbH
Werksgasse 281
A-8786 Rottenmann



Lallemand Specialties GmbH
Ottakringer Straße 89
A-1160 Wien



Lohmann Animal Health GmbH
Heinz-Lohmann-Strasse 4
D-27472 Cuxhaven



Orffa (Deutschland) GmbH
Lübecker Straße 29
D-46485 Wiesel



Pancosma S.A.
Voie-des-Traz 6
CH-1218 Le Grand-Saconnex



H. Wilhelm Schaumann GmbH
& Co. KG
Jakob-Fuchs-Gasse 25-27
A-2345 Brunn am Gebirge



Zinpro Performance Minerals™
Akkerdistel 2^E
NL-5831 PJ Boxmeer
