

12. BOKU-SYMPOSIUM TIERERNÄHRUNG

TAGUNGSBAND

Auf der Suche nach neuartigen
Futtermitteln und Technologien
in der Tierernährung

11. April 2013 in Wien



TIERERNÄHRUNG
TIERISCHE LEBENSMITTEL
ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE

Tagungsband

**12. BOKU-Symposium
TIERERNÄHRUNG**

**Auf der Suche nach neuartigen
Futtermitteln und Technologien
in der Tierernährung**

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



**Interuniversitäres Department für
Agrarbiotechnologie**



**BOKU – University of Natural Resources
and Life Sciences, Vienna**



Universität für Bodenkultur Wien

11. April 2013, Wien

Tagungsband:

12. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG

Auf der Suche nach neuartigen Futtermitteln und Technologien in der Tierernährung

11. April 2013, 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 978-3-900932-13-8

Für den Inhalt der Beiträge sind allein die Autoren verantwortlich.

Inhaltsverzeichnis

Übersichtsvorträge

Tierernährung auf der Suche nach neuen Futterquellen W Windisch, D Brugger, M Buffler, M Deml, C Fahn	1
Fermentation – eine alte Technologie mit großem Potential beim Monogaster K Schedle, M Kraler, E Humer	8
Energy evaluation of pig feeds with emphasis on net energy J Noblet	13
Möglichkeiten der Futterwertverbesserung beim Geflügel H Jeroch	19
Potential neuer Prozesse der Lebensmitteltechnologie für Futtermittel D Knorr	27
Neue Ansätze zur Messung und Stabilisierung des Vormagen-pH-Wertes beim Rind J Gasteiner	28
<i>In vitro</i> -Systeme als Modell für die Pansenphysiologie und Methoden zur Charakterisierung der Pansenmikroorganismen JO Zeitz	34
Mischgenauigkeit – Möglichkeiten zur Kontrolle F Doppelreiter	44

Futtermittel, Futterbewertung und Fütterung / Feedstuff, feed evaluation and feeding

Einfluss variierender XP-Versorgung in der Bullenmast auf leberspezifische Enzyme im Blutplasma, Abbauprodukte des Purinstoffwechsels und Morphologie der Pansenwand VS Aichner, T Ettle, W Windisch	48
Einsatz von Leinextraktionsschrot in der Aufzucht weiblicher Fresserkälber T Ettle, A Obermaier	53
Anteil unterschiedlicher N-Verbindungen in der Auswaschfraktion von Wiederkäuerfutter- mitteln bei Verwendung verschiedener Maschenweiten G Lindner, K Schedle	59
Effect of two different energy systems (ME and NE) on zootechnical performance and slaughter parameters in fattening pigs fed a protein-reduced diet K Schedle, K Wintersteiger, E Corrent, J Bartelt	65
Neubewertung von Schweinefuttermitteln im Rahmen der Bayerischen Eiweißinitiative M Schäffler, H Lindermayer, G Propstmeier	72
Schweinemast mit Rapsextraktionsschrot W Preißinger, H Lindermayer, G Propstmeier	77
Gewinnung von Futterproteinkonzentrat aus Grünlandbiomasse C Nadler, D Brugger, W Windisch	83
Standardized ileal digestibility of amino acids of corn and wheat in young turkeys K Kozłowski, A Helmbrecht, J Jankowski, H Jeroch	88

Untersuchung der Verdaulichkeit von in Trockenschlempe enthaltenen Nährstoffen beim Rotwild M Vodnansky, M Rajský, M Chrenková	90
Utilization of food industry by-product as a feed for rabbits M Chrenková, Ľ Chrastinová, Z Formelová, M Poláčiková, Ľ Ondruška, V Parkányi, S Pomykalová	95
Gehalt an resistenter Stärke von österreichischen Gerstensorten und seine Beeinflussung durch eine Behandlung mit Milchsäure K Deckardt, A Khol-Parisini, D Stöger, K Binder, M Kreuzer, A Jelinek, J Werner, H Grausgruber, Q Zebeli	99
Neubewertung von Nebenprodukten der Mehlmüllerei M Schäffler, K Rutzmoser, H Lindermayer, W Preißinger	104
Fichtennadelpulver – altes Futtermittel neu entdeckt A Bosse	108
Aquatische Biomasse als Futter für Mollusken in der Aquakultur: Pilotstudie zur Messung von Nährstoffverdaulichkeiten am Tiermodell der Posthornschncke (<i>Planorbarius corneus</i>) E Fischbacher, J Geist, W Windisch	111
Feed materials derived from insects and other invertebrates – Current situation of legal status C Elwert	118
Microbiological analysis of silage at different contaminant levels in soil V Mlejnková, M Fröhdeová, K Lukešová, J Přichystalová, L Kalhotka, P Doležal	121
Comparison of nutrient digestibility of fermented and non-fermented diets fed to growing pigs M Brestenský, S Nitrayová, P Patráš, J Heger	126
 <u>Mikronährstoffe / Micronutrients</u>	
Wirkung einer Kombination von organischen Spurenelementen auf Klauenverletzungen bei Sauen – Ergebnisse aus Feldversuchen in Europa C Rapp, FF Lopez-Brea	132
Influence of organic and inorganic selenium on egg quality, fatty acid profile and malondialdehydes concentration by using different oils in the hen feeding V Buckiuniene, R Gruzauskas, A Raceviciute-Stupeliene, V Kliseviciute, G Svirmickas, S Bliznikas	135
Beiträge von hofeigenem und zugekauftem Futter zur Gesamtelementfracht für die Fütterung von Milchkühen in drei Regionen Niederösterreichs M Sager, M Hobegger	141
Titanium status in ruminants and omnivores W Arnhold, M Anke, S Göbel, M Seifert	146
Untersuchungen zu Effekten einer erhöhten Biotin-Gabe in Kombination mit unterschiedlicher Zink-Zulage (ZnO vs. Zn-Met 1:2 Komplex) auf die Entwicklung und Schweregrad der Fußballendermatitis von Mastputen beim Einsatz diverser Einstreuarten D Radko, A Müller, A-A Al-Wahab, J Kamphues	152
Der Einfluss von Vitamin-B-Zulagen auf verschiedene Leistungsparameter beim Mastschwein W Arnhold, G Richter, S Müller, W Schad, B Neues, S Göbel	157

Futterzusatzstoffe / Feed additives

Effect of Mannan Rich Fraction (MRF) on technical results and food pad lesions in broilers P Laustsen, L Nollet, L Haidle	164
Lignocellulose Formulierung mit Amylase-hemmender Wirkung <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i> C Schieder, J Gasteiner, A Kroismayr, E Leidinger, P Ludwig, N Neufeld, W Zollitsch	167
Wirkung eubiotischer Lignocellulose auf die Abferkeldauer von Zuchtsauen L Baarslag, A van Enckevort, R Boonekamp, A Kroismayr	175
Effect of inoculant type on dry matter losses, fermentation pattern, yeast count and aerobic stability of green rye silages H Auerbach, K Weiss, P Theobald, E Nadeau	179
The effect of inoculant addition on the qualitative parameters of TMR for roe deer P Dolezal, J Hrbek, V Mlejnkova, L Kalhotka, K Szwedziak, M Tukiendorf, L Zeman	187
Biogenic amines and D(-) lactic acid formation in solid state fermented with certain lactobacillus lupine products E Bartkiene, G Juodeikiene, A Maruska, O Ragazinskiene, P Matusevicius, E Skabeikyte	192
Influence of autolysed yeast derivatives on continuous rumen fermentation <i>in vitro</i> C Stoiber, A Ganner, C Reichel, S Rose, G Schatzmayr, I Dohnal	196
Multiple study analysis of the effect of live yeast (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNCM I-1077) on milk and milk component production and feed efficiency MB de Ondarza, CJ Sniffen, L Dussert, E Chevaux, J Sullivan, N Walker	201
The effect of addition of yeast culture on the content of IgG in colostrum of cows M Fröhdeová, V Mlejnková, K Lukešová, R Krobot, P Doležal	206
Improvement of zootechnical parameters in weaned piglets by a phytogetic performance enhancer M Goerke, K Wendler	210
Effect of a patented combination of plant extracts on piglets performance G Benzoni, J-M Laurent, D Coquil, A Morel, M-L Le Ray	213
Effect of herbal extracts added to feed mixture on boar reproduction traits A Lustyková, E Václavková, M Rozkot, S Frydrychová, J Lipenský, L Opletal	217
A standardized blend of carvacrol, cinnamaldehyde and capsicum oleoresin improves energy partitioning in broilers V Pirgozliev, D Bravo, P Rose, C Oguey	223
Positive effects of a new phytogetic feed additive on broiler performance and microflora E Holl, A-K Blässe, W Vahjen, K Männer	228
Effects of a phytogetic feed additive on performance and blood parameters in laying hens L Jungbauer, KR Wendler	233
The impact of medium chain fatty acids on the zootechnical parameters of suckling and weaned piglets A Jerešiūnas, O Jerešiūnienė, D Tamašauskienė	237
Direkte Applikation einer thermostabilen Xylanase direkt in den Chargenmischer P Philipps, P Steen, N Amonthewaphat, I Kühn	243
Effects of xylanase in an <i>in vitro</i> digestion model for chicken E Mader, C Schauerhuber, M Pfeffer, G Schatzmayr	248

Das Potential einer bakteriellen Xylanase als Präbiotikum S Kirwan, E Holl	253
Wirksamkeit einer hitzestabilen 6-Phytase auf die P Verdaulichkeit und Knochen- mineralisierung von Absetzferkeln I Kühn, P Philipps, K Partanen	257
Effect of a combination of organic an acid blend, cinnamaldehyde and a permeabilizing substance on the cecal microbiome and growth performance in broilers N Roth, R Urbaityte, X Yan, Q Lei, S Weidong	262
The effect of addition of taurine in the diet on antioxidant activity by FRAP (Ferric reducing antioxidant potential) K Lukešová, R Krobot, V Mlejnková, M Fröhdeová, L Zeman	269
Applikation von pansengeschütztem L-Carnitin bei Milchkühen in der Transitphase und Hochlaktation H Scholz, E von Heimendahl, F Menn	273
Influence of an antioxidant supplementation on oxidative status and adipose and liver transcriptome in early lactation dairy cattle JP McNamara, J Thomson, E von Heimendahl	279
Einsatz von nährstoffreduziertem Futter in der Sauenhaltung G Stalljohann, R Schulte-Sutrum	283
 <u>Mykotoxine / Mycotoxins</u>	
Acute deoxynivalenol exposure modulates the intestinal transporter trafficking in broiler chickens WA Awad, K Ghareeb, J Böhm, M Hess, J Zentek	288
Effects of deoxynivalenol and a microbial feed additive on performance traits and pH of the gastrointestinal tract of broiler chickens K Ghareeb, WA Awad, J Böhm	295
Effect of feeding mycotoxin-contaminated grain on the growth properties of model animals (laboratory rats) R Krobot, K Lukešová, M Fröhdeová, V Mlejnková, L Zeman	299
Bestimmung der Toxizität von hydrolysiertem Fumonisin B ₁ (HFB ₁) anhand des Sphinganin/Sphingosin-Verhältnisses in Ratten V Nagl, H Schwartz, C Mair, E Varga, V Slavik, R Krska, F Berthiller	304
Der Einfluss von Fumonisin B ₁ und dessen hydrolysiertem Derivat auf die Darmmorphologie bei Ratten E Gruber, V Nagl, C Mair	310
 <u>Weitere Themen zur Tierernährung / Further aspects in animal nutrition</u>	
Charakterisierung des ruminalen Mikrobioms durch DNA-Klassifizierung mittels qPCR E Lederer, W Windisch, C Fahn	317
 Autorenverzeichnis	 323
Sponsoren	326

Tierernährung auf der Suche nach neuen Futterquellen

Wilhelm Windisch, Daniel Brugger, Marzell Buffler, Mirko Deml und Carmen Fahn

Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, DE

Hintergrund und Problemstellung

Die rasant ansteigende Weltbevölkerung stellt die weltweite Nahrungssicherung vor eine große Herausforderung. So ist die Lebensmittelproduktion sowohl von pflanzlichen als auch tierischen Produkten bis 2050 zu verdoppeln (Godfray et al., 2010). Agrarfläche und Wasser sind aber nur begrenzt verfügbar, wodurch die Konkurrenz zwischen Lebensmittel- und Futtermittelproduktion sowie der Produktion erneuerbarer Energien steigt (Smith et al., 2010). Um in diesem Konkurrenzkampf auch künftig bestehen zu können, muss die Tierernährung neue Futterquellen erschließen.

Bei der Suche nach neuen Futterquellen sind drei Hauptfaktoren zu berücksichtigen: die als Futtermittel verwendbare Biomasse, der Transformator der Biomasse (Nutztier) und das vom Transformator erzeugte Produkt (Lebensmittel) (Abbildung 1). Hierbei stellt sich die Kernfrage: Welche Biomasse kann von welchem Transformator mit welcher Effizienz in qualitativ hochwertige Lebensmittel umgesetzt werden?

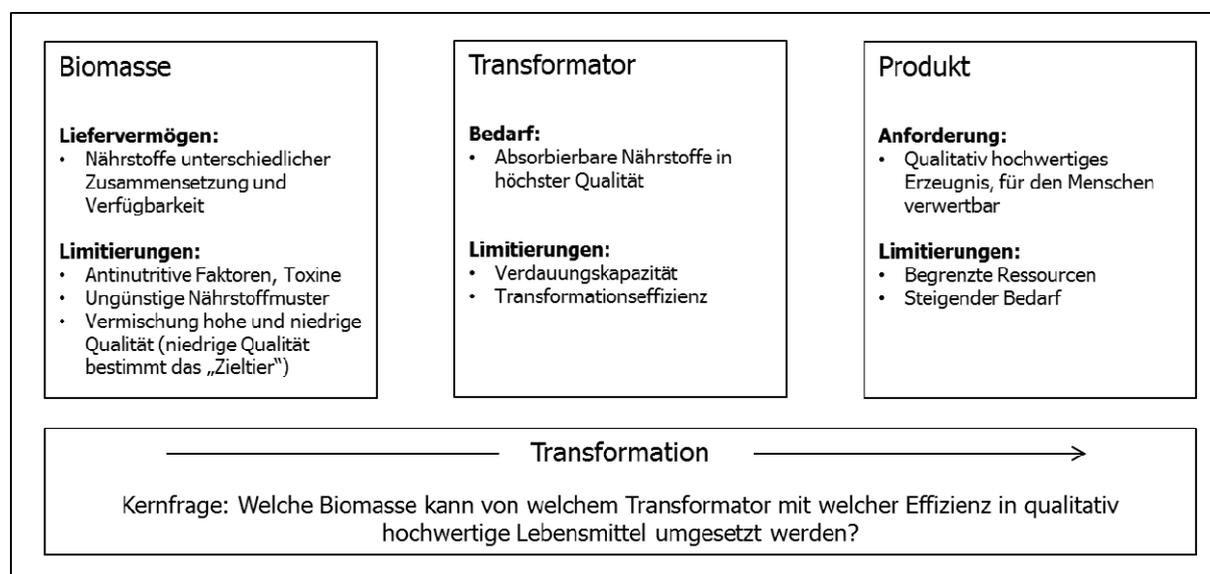


Abbildung 1: Übersicht des Transformationsprozesses von Futterbiomasse zum tierischen Produkt

Die Biosphäre unseres Planeten besteht zum überwiegenden Teil aus pflanzlicher Biomasse (potenzielle Futterquelle). Allerdings zeigen sich erhebliche Unterschiede in ihrer Qualität, insbesondere in der Dichte an verdaulichen Nährstoffen bzw. Energie sowie der Gegenwart unerwünschter oder toxischer Inhaltsstoffe. Diese Eigenschaften bestimmen, ob Biomasse als Lebensmittel bzw. Futtermittel geeignet und wer der „Endverbraucher“ ist. Für den Menschen ist der überwiegende Teil der agrarischen

Biomasse oftmals nicht oder nur schlecht verwertbar und kann nur über einen „Transformator“ (Nutztier) in ein Produkt mit hinreichender Qualität umgewandelt werden. Aber auch für unsere Nutztiere ist nicht jede Biomasse als Futtermittel geeignet. Limitierend sind unter anderem die Gehalte an anti-nutritiven Faktoren oder Toxinen und die Mindestansprüche der jeweiligen Nutztierspezies an die Verdaulichkeit der Nährstoffe, die aus der biologisch determinierten Kapazität des Verdauungstrakts zur Zerlegung von komplexer Biomasse in absorbierbare Nahrungskomponenten resultiert. Darüber hinaus setzen die Gegebenheiten des Stoffwechsels auch postabsorptiv der Transformation in hochwertige Produkte enge Grenzen. Zudem hat die Produktionsrichtung innerhalb der Nutztierarten einen erheblichen Einfluss auf die Transformationseffizienz. Im Allgemeinen wird von einer Effizienz der Transformation in essbares Protein von 10 % ausgegangen, wohingegen sich Unterschiede zwischen den einzelnen Nutztierarten und Produktionsrichtungen um den Faktor 10 ergeben. So kann die Milchproduktion, unter der Voraussetzung einer guten Futterqualität, in der Erzeugung von Nahrungsprotein durchaus mit Schweinefleisch konkurrieren.

Das hier aufgegriffene Thema (Suche nach neuen Futterquellen) berührt im Wesentlichen den Beginn des Transformationsprozesses (siehe Abbildung 1) und erstreckt sich vom Kernbereich der „Biomasse“ bis zum „Transformator“. Dabei sind sowohl die Nutzbarmachung bislang nicht verwertbarer Biomasse anzusprechen als auch Maßnahmen zur Verbesserung der Verwertung von Biomasse. Letztere beziehen auch den Transformator mit ein und erstrecken sich von der Verbesserung der Verdauungskapazität bis zum Transformator selbst, also der Anpassung des Nutztieres an die Eigenschaften der verfügbaren Biomasse. Diese Aspekte sollen im Folgenden kurz beleuchtet werden.

Nutzbarmachung bisher nicht verwertbarer Biomasse

Pflanzliche Biomasse ist nur zu einem gewissen Grad durch unsere Nutztiere verwertbar. Der wichtigste begrenzende Faktor ist hier der Gesamtgehalt an Lignozellulose, für dessen Aufschluss keines unserer Nutztiere über geeignete körpereigene Enzyme verfügt. Im Gegensatz zum Monogastrier können sowohl Wiederkäuer als auch Equiden die Lignozellulosekomplexe mit Hilfe von Mikroorganismen in den Vormägen bzw. im Enddarmsystem in quantitativ bedeutsamen Mengen abbauen. Allerdings ist dieser Prozess langsam und mit Energieverlusten behaftet, sodass die Lignozellulose die Verdaulichkeit des Futters auch für diese Nutztierspezies stark begrenzt. Ein wesentlicher Aspekt der Suche nach neuen Futterquellen muss demnach das Ziel haben, schwer oder gar nicht verdauliche Biomasse verdaulich(er) zu machen.

Das Aufbrechen von Lignozellulosekomplexen wäre eine potente Möglichkeit der Nutzbarmachung bisher nicht verwertbarer Biomasse. Bereits 1985 berichteten Kerley et al. von positiven Effekten einer Behandlung von Weizenstroh mit verdünnter Natronlauge (NaOH). So verbesserte sich die Verdaulichkeit der Faserfraktionen (NDF, ADF, Cellulose) in wachsenden Lämmern um den Faktor 2. Die bessere Verwertbarkeit spiegelte sich auch in erhöhten Anteilen verdaulicher bzw. umsetzbarer Energie um jeweils Faktor 1,5 wider und in der Folge in signifikant erhöhter Futteraufnahme und Tageszunahme. Anders ausgedrückt kann die doppelte Menge der jährlich anfallenden Faserstoffe in der Landwirtschaft durch die Nutz-Wiederkäuer verwertet bzw. der Anteil an umsetzbarer Energie aus faserreichen Futtermitteln um 50 % verbessert werden. Heutzutage wird im Bereich der nachwachsenden Energieträger intensiv an biotechnologischen Verfahren des Aufschlusses von Lignozellulose gearbeitet (Sanderson, 2011). Hiervon könnte die Tierernährung künftig enorm profitieren, allem voran die Wiederkäuer, da die ruminale Mikroflora die pflanzlichen Faserkomplexe besser angreifen könnte.

Faserreiche Futtermittel enthalten im Inneren der Pflanzenzellen oftmals beträchtliche Mengen an hochwertigem Eiweiß. Dieses Eiweiß ist jedoch in der Regel von faserhaltigen Zellwänden umschlossen und für den Monogastrier damit nicht verfügbar. Das Aufbrechen der Lignozellulosekomplexe löst dieses Problem nur bedingt. Diese hochwertige Eiweißquelle könnte für die Monogastrier jedoch durch Gewinnung von Pflanzensaft (z.B. Pressung) und Ausfällung der gelösten Proteine (z.B. über Säure

oder Hitze) zugänglich gemacht werden. Nadler et al. (2013) berichten von Ausbeuten an Reineiweiß beispielsweise aus Dauergrünland oder Ackerrotklee im Bereich von etwa 100 bzw. 300 kg pro Hektar und Jahr wobei die Eiweißqualität (Aminosäuremuster) mit der von Sojaextraktionsschrot durchaus konkurrieren kann.

Auch die Elimination von Toxinen und antinutritiven Stoffen durch Züchtung, Gentechnik und verschiedene Verarbeitungsverfahren können bei der Nutzbarmachung bisher nicht verwertbarer Biomasse helfen. Ein klassisches Beispiel für die systematische Elimination von Toxinen ist der erucasäurefreie sowie glucosinolatarme 00-Raps, den die Pflanzenzüchtung in den 80er Jahren hervorgebracht hat. Weiterhin werden die Sojabohne und deren Nebenprodukte getoastet, um die darin enthaltenen Trypsininhibitoren zu inaktivieren. Dieser Prozess verbessert nicht nur die Verdaulichkeit und biologische Wertigkeit des Proteins, er macht das Produkt schmackhafter, indem er gleichzeitig das Enzym Urease inaktiviert. Die eiweißreichen Baumwollsamensamen, die derzeit noch einen hohen Anteil des Toxins Gossypol aufweisen, könnten künftig für die Tierernährung interessant werden, da es bereits durch RNA-Interferenz-basierte genetische Modifizierung gelungen ist, die Gehalte des Toxins auf ein erblich stabiles, geringeres Niveau zu bringen (Sunilkumar et al., 2006).

Eine weitere Möglichkeit die Qualität des Futters zu verbessern ist die Eliminierung von Nährstoff-Imbalanzen durch Supplementierung limitierender Einzelnährstoffe. Hierbei zählt wohl die Supplementierung von essenziellen Aminosäuren in der Fütterung von Monogastriern zu den wichtigsten Punkten. Dabei wird das Aminosäuremuster der Futterquelle in Richtung „Idealprotein“ verschoben, wodurch die Transformationseffizienz signifikant verbessert und große Mengen an Futterprotein eingespart werden können.

Verbesserung der Verdauungskapazität

Bei der Suche nach neuen Futterquellen stößt man unweigerlich auf die Kernfrage, in welchem Umfang die momentan verfügbare Biomasse dem Nutztier absorbierbare Nährstoffe liefern kann. Die Beantwortung dieser Frage hängt im Wesentlichen von zwei Faktoren ab: von der chemischen Zusammensetzung des Futters (Futterquelle) und der Verdauungskapazität des Tieres (Transformator). Bei beiden Faktoren können Limitierungen auftreten. Diese gilt es zu beseitigen, um die Passgenauigkeit zwischen der Futterquelle und dem Transformator zu optimieren, was wiederum die Grundvoraussetzung für eine hohe Futtermittelverwertung ist. Die bisherigen (konservativen) Ansätze beschränkten sich meist auf Veränderungen am Futter (Eliminierung von Toxinen und antinutritiven Faktoren, Beheben ungünstiger Nährstoffmuster durch Supplementierung). Ein weiterer Ansatzpunkt ist die Anpassung der Verdauungskapazität des Nutztieres an die besonderen Eigenschaften des Futters, was letztendlich das Spektrum der „verfügbaren“ Biomasse erweitert. Dies ist ein großes Entwicklungsfeld vor allem für enzymatische Futterzusatzstoffe.

Die Verbesserung der Verdauungskapazität durch Supplementierung von exogenen Enzymen verfolgt zwei verschiedene Ansatzpunkte. Auf der einen Seite stehen Enzyme, die vom Organismus selbst nicht synthetisiert werden können und die unverdauliche Komponenten des Futters in absorbierbare Nährstoffe abbauen sollen. Auf der anderen Seite wird versucht, die körpereigene Enzymausstattung durch Zulagen ähnlich wirkender Fremdenzyme zu verstärken und eventuell auftretenden Engpässen entgegenzuwirken. Klassische Beispiele für Enzyme der ersten Art sind die mikrobiellen Phytasen, die das in allen Körnern und Samen reichlich vorkommende Phytat abbauen und den freigesetzten Phosphor der Verdauung durch das monogastrische Nutztier zuführen. Als Enzyme der zweiten Art sind etwa Amylasen und Proteasen zu nennen. Sie können die Transformationseffizienz von Monogastriern beträchtlich steigern. So berichtet beispielsweise Weber (2012) von einer um bis zu 8 % erhöhten Proteinverdaulichkeit bei Geflügel durch Zulage von Proteasen. Bei Mastschweinen konnten die durchschnittlichen täglichen Zunahmen durch den Einsatz von Amylasen, Mannosidasen und Proteasen zu einer mais- und sojabasierten Ration gegenüber der Kontrolle signifikant verbessert werden (Jo et al., 2012).

Auch beim Wiederkäuer kann der Einsatz von Amylasen und Proteasen einen Beitrag zu einer verbesserten Nährstoffausnutzung leisten (Ferraretto et al., 2011), vor allem wenn diese Nährstoffe (Stärke) in einer schwer zugänglichen Form vorliegen, wie zum Teil in Mais oder Hirse (Eisenreich, 2007; Colombatto und Beauchemin, 2009). Die Entwicklung von Enzymen zur Verbesserung der Verdauungskapazität von Nutztieren wird in Zukunft die effiziente Transformation von Biomasse in essbare Produkte entscheidend fördern. Das wichtigste Ziel liegt hierbei wohl hauptsächlich in der Entwicklung von Enzymen, welche bislang unverdauliche bzw. schwer verdauliche Faserkomplexe, wie Lignozellulose, aufschließen und dadurch nutzbar machen.

Ein weiterer Ansatzpunkt für die Verbesserung der Verdauungskapazität und damit auch der gesamten Transformationseffizienz ist die Stabilisierung der Funktionalität des Verdauungstrakts, denn ungünstige Verhältnisse verbrauchen erhebliche Mengen an Nährstoffen und entziehen sie der Transformation in essbare Produkte. Einer der Wege zur Stabilisierung der Funktionalität des Verdauungstrakts liegt in der Elimination antinutritiver Faktoren. Ein Beispiel ist der Einsatz NSP-spaltender Enzyme beim Monogastrier. Auch wenn die auf dem Markt befindlichen NSP-spaltenden Enzyme selbst keine absorbierbaren Monosaccharide freisetzen, so können sie die Verdauungskapazität dennoch erheblich fördern, indem sie durch Abbau der Viskosität des Darminhalts neben hygienischen Aspekten auch den Zugriff körpereigener Enzyme auf ihre Substrate erleichtern. Ein weiterer wichtiger Ansatzpunkt der Stabilisierung der Funktionalität des Verdauungstrakts betrifft die Futter- und Darmhygiene monogastrischer Nutztiere. Hier sind etwa die organischen Säuren, die Probiotika sowie die phytogenen Zusatzstoffe zu nennen, deren positive Wirkung auf die Verdauungskapazität vielfach untersucht und beschrieben wurde (Beispiele für Reviews: Roth und Kirchgessner, 1998; Simon 2010; Windisch et al., 2008). Auch bei Wiederkäuern zeichnet sich ein gewisser Spielraum zur Stabilisierung der Vormagenverdauung durch Futterzusätze ab (v.a. ätherische Öle; z.B. Molero et al., 2004; Newbold et al., 2004).

Anpassung des Nutztieres

Die Veränderung der eingesetzten Futtermittel sowie die Erhöhung der Verdauungskapazität durch Zusatzstoffe können das Spektrum der verfügbaren Futterquellen bereits wesentlich vergrößern. Eine vollständig andere Blickrichtung bringen Überlegungen, die Transformatoren selbst zu modifizieren und diese an die verfügbare, aber bislang noch nicht (hinreichend) nutzbare Biomasse anzupassen. Dadurch werden die Möglichkeiten und Grenzen der Nährstofftransformation durch Nutztiere neu definiert und bieten so die Chance zur Erschließung neuer Ressourcen an Biomasse. Hierfür stehen im Prinzip zwei Wege offen: Zum einen können die biologischen Eigenschaften bisheriger Nutztierspezies so verändert werden, dass ihr Transformationsspektrum erweitert wird. Dies erfordert im Wesentlichen die Anwendung biotechnologischer Verfahren. Die zweite Richtung führt dahin, dass man über die traditionell etablierten Nutztierspezies hinaus nach neuen Transformatoren Ausschau hält, die bislang ungenutzte Biomasse in verwertbare Produkte (Futter- und/oder Lebensmittel) veredeln können.

Gentechnische Veränderungen an lebensmittelliefernden Nutztieren haben in der westlichen Welt derzeit noch keinen nennenswerten Eingang in die landwirtschaftliche Produktion gefunden. Gründe liegen hierbei sicherlich in der oftmals fehlenden Akzeptanz durch die Gesellschaft. Dennoch wird an diesem Ansatz weltweit gearbeitet. Die Forschungsschwerpunkte im Bereich der Nutztiere liegen auf der Verbesserung der Wachstumsleistung, der Veränderung der Nährstoffzusammensetzung für Lebensmittel und der Entwicklung von Krankheitsresistenzen. Ein in der Entwicklung bereits weit fortgeschrittenes Beispiel für die Einsatzmöglichkeit eines transgenen Nutztiers ist das Enviro-Pig der Universität Guelph/Kanada (Herzog, 2012). Hier wurde den Schweinen das bakterielle *E. coli*-Gen für Phytase transferiert. Die Schweine exprimieren nun das Fremdenzym und sezernieren es mit dem Speichel, so dass sie nun selber absorbierbaren Phosphor aus Phytat freisetzen können. Dies reduziert die erforderliche Supplementierung des Futters mit mineralischem Phosphor und senkt die Phosphor-Emissionen um bis zu 65 % gegenüber dem Wildtyp (Golovan et al., 2001).

In der Aquakultur steht ein gentechnisch verändertes Nutztier bereits im Zulassungsverfahren zur Markteinführung in den USA. Es handelt sich um den AquAdvantage-Lachs (Fa. Aquabounty Technologies). Hierbei werden Tiere des atlantischen Lachses mit Genen des pazifischen Königslachses und des Meeres-Dickkopfes modifiziert. Dazu wurde ein Genkonstrukt für ein Wachstumshormon in Kombination mit einer Regulationssequenz für das sogenannte Anti-Frost-Protein entwickelt. Dies führt dazu, dass die Tiere auch bei niedrigeren Umgebungstemperaturen volle Wachstumsleistung bringen und somit das Spektrum der Produktionsstandorte erheblich erweitert wird. Gleichzeitig werden vom Hersteller Effizienzsteigerungen in der Futterverwertung von bis zu 10 % prognostiziert, sowie eine Vordopplung der Wachstumsrate angenommen (Aqua Bounty Technologies, Inc., 2010).

Die zweite Möglichkeit, bislang kaum verwertbare Biomasse nutzbar zu machen, ist die Suche nach neuen Nutztieren (Transformatoren), entweder als direkter Ersatz für lebensmittelliefernde Nutztiere oder als Zwischenstufen der gesamten Transformationskette. Ein besonderes Augenmerk bei dieser Suche liegt derzeit auf den Insekten und Mollusken. Insekten stellen dabei die terrestrischen Vertreter dar, um bisher ungenutzte oder schlecht verwertete Biomasse in hochwertige Futter- oder Nahrungsmittel zu transformieren. Mollusken hingegen sind potenzielle Kandidaten für die gesuchten „Wiederkäuer der Meere“, die die großen Mengen an pflanzlicher bzw. pflanzenähnlicher aquatischer Biomasse, die ähnlich wie terrestrische Biomasse überwiegend aus schwer verdaulicher Faser besteht, in hochwertige Lebensmittel oder Futtermittel transformieren könnten.

Während Insekten in tropischen Ländern schon immer zur Humanernährung beigetragen hatten, werden sie in der westlichen Welt nur vereinzelt als Delikatessen angesehen und verzehrt (DeFoliart et al., 1999). Dabei ist die Nährstoffzusammensetzung dieser Tiere von sehr hoher Qualität und wäre deshalb prinzipiell als Futter- und/oder Nahrungsmittelquelle geeignet. Besonders die Protein- und Fettgehalte (20-70 % bzw. 10-50 %) können mit hochwertigen Fleischerzeugnissen sowohl quantitativ als auch qualitativ durchaus konkurrieren (FAO, 2010). So zeichnet sich beispielsweise das Fettsäuremuster von Insekten gegenüber anderen tierischen Erzeugnissen durch einen hohen Anteil an langkettigen, ungesättigten Fettsäuren aus (Feng, 2001). Während die Larvalstadien aufgrund ihrer protein- und fettreichen Körperzusammensetzungen bessere Nährwerte zeigen, kann der hohe Chitingehalt der adulten Tiere möglicherweise positive Effekte auf die Gesundheit bringen, die allerdings noch nicht ausreichend erforscht sind (Chen et al., 2010). Es konnte gezeigt werden, dass Grillen (*Achaeta domestica*) bei gleicher Ration eine 5fach höhere Futterverwertung als Mastrinder aufweisen. Wird zusätzlich auch noch die Reproduktionsrate mit einberechnet, beträgt der Unterschied das 15-20fache (Nakagaki et al., 1991). Entscheidend für die potenzielle Verwendung von Insekten als neue Nutztiere ist jedoch die Frage, ob und mit welcher Effizienz sie faserreiche Biomasse in verwertbare Produkte (Lebensmittel oder Futtermittel) transformieren können. Bislang ist noch vollkommen unklar, welcher Spielraum der Transformationseffizienz durch Insekten sich durch Optimierung der Rationszusammensetzung, Supplementierung von Futterzusatzstoffen (z.B. Aminosäuren, Enzyme) und gar durch gentechnische Veränderung der Insekten selbst eröffnen wird.

Ein fundamentales Problem bei der Erschließung neuer Futterquellen ist ihre Bereitstellung an sich. Praktisch alle Futtermittel für Nutztiere sind terrestrischer Herkunft, müssen also auf der immer knapperen landwirtschaftlichen Nutzfläche angebaut werden. Dies gilt auch für Fischfutter, dessen Anteil an Fischmehl aufgrund zunehmender Verteuerung stetig abnimmt und durch pflanzliche Produkte zusehends ersetzt werden muss. Die moderne Aquakultur hängt somit in immer steigendem Maße von der Produktivität der terrestrischen Bereitstellung von Futtermitteln ab. In diesem Zusammenhang könnte der „aquatische Futterbau“, also das Kultivieren von Pflanzen oder anderen nicht-tierischen Organismen (Algen etc.) als potenzielles Gegenstück zum „agrarisches Futterbau“ vollkommen neue Dimensionen eröffnen. Die ersten Ansätze liefert der in Ostasien bereits seit Jahrhunderten etablierte Anbau von Makroalgen (z.B. Rotalgen oder Braunalgen) in küstennahen Gewässern und die Kultivierung von Mikroalgen, allerdings primär als Produktionsmedium für nachwachsende Energieträger.

Die Biomasse von Algen besteht überwiegend aus Kohlenhydraten, deren Zusammensetzung vom Muster herkömmlicher pflanzlicher Futtermittel erheblich abweicht. Für terrestrische Nutztiere kann

diese Biomasse durchaus gewisse prebiotische Effekte entfalten (O'Sullivan et al., 2010). Wegen ihrer eingeschränkten Verdaulichkeit stellen sie jedoch keine hochwertigen Energie- und Nährstoffträger für terrestrische Nutztiere dar. Dies ist der Grund, warum Algen, beispielsweise in Form von Seetang, trotz lokal hoher Verfügbarkeit in der Tierernährung einschließlich der Fütterung von Wiederkäuern bislang keine quantitativ relevante Rolle gespielt haben.

Der geringe Futterwert von Algen für terrestrische Nutztiere schließt die potenzielle Verwertung von Algen als Futtermittel keineswegs kategorisch aus. Es ist vielmehr zu prüfen, ob nicht vielleicht andere Spezies als die etablierten Nutztiere in der Lage sind, die Kohlenhydrate der Algen effizient zu transformieren. Mollusken (z.B. Schnecken und Muscheln) sind hierzu prädestiniert, denn sie leben unter anderem von Algen. Tatsächlich konnte jüngst gezeigt werden, dass die Süßwasser-Teichmuschel der Gattung *Anodonta* über Verdauungsenzyme verfügt, die Laminarin effizient in Glucose abbauen können (Michl, 2012: Lehrstuhl für Aquatische Systembiologie, WZW, Technische Universität München, unveröffentlichte Daten). Dies ist insofern von Bedeutung, als Laminarin das Reservekohlehydrat von Algen ist, ähnlich der Stärke in terrestrischen Pflanzen. Der geringe Futterwert von Algen für terrestrische Nutztiere liegt somit unter anderem am Fehlen geeigneter Verdauungsenzyme, die die (1→3)- β -Verknüpfung der Glucose im Laminarin spalten könnten. In einer weiteren Pilotstudie mit Posthornschnecken wurde für die Verdaulichkeit der Trockenmasse von Rotalgen ein überraschend hoher Wert von 63 % gemessen, während pelletiertes Fischfutter „nur“ 51 % erreichte (Fischbacher et al., 2013). Diese Ergebnisse machen deutlich, dass in aquatischen Systemen neben den klassischen Nutztieren wie Fischen und Krustaceen, die mit relativ hochwertigem Futter versorgt werden müssen, mehrere potenzielle Transformatoren zu finden sind, die momentan noch nicht oder kaum nutzbare Biomasse in essbare oder als Futtermittel verwendbare Produkte umwandeln können.

Fazit

Die Tierernährung wird zunehmend mit der Erzeugung von Lebensmitteln und industriellen Rohstoffen (Energie, Baustoffe) um Futtermittel-taugliche Biomasse konkurrieren. In diesem Wettbewerb wird es immer notwendiger werden, an der Verbesserung der Futterqualität von Biomasse zu arbeiten, deren Verwendung als Futtermittel bislang limitiert war. Die Beseitigung von Flaschenhälsen im Futterwert erstreckt sich allerdings nicht nur auf die Eigenschaften der jeweiligen Biomasse (z.B. Elimination von Toxinen). Sie betrifft ebenso auch die Verdauung im Nutztier bis hin zur Absorption von Nährstoffen. Die Suche der Tierernährung nach neuen Futterquellen mündet somit unmittelbar in dem Ziel, die physikalisch-chemischen Eigenschaften der verfügbaren Biomasse mit der Verdauungskapazität geeigneter Nutztierspezies in ein optimales Verhältnis zu bringen und die Effizienz der gesamten Strecke von der Biomasse bis zum Nutztier selbst zu maximieren. (Bio)technologische Maßnahmen werden hierzu einen großen Beitrag leisten.

Literatur

- Aqua Bounty Technologies, Inc. (2010): An Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) bearing a single copy of the stably integrated α -form of the opAFP- GHc2 gene construct at the α -locus in the EO-1 α line. Environmental Assessment for AquAdvantage[®] Salmon, <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/VeterinaryMedicineAdvisoryCommittee/UCM224760.pdf>
- Chen X., Feng Y., Zhang H., Chen C. (2010): Review of the nutritive value of edible insects. In: FAO (Hrsg.): Edible Forest Insects - Human bites back. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
- Colombatto D., Beauchemin K.A. (2009): A protease additive increases fermentation of alfalfa diets by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. J. Anim. Sci. 87, 1097-1105.
- DeFoliart G.R. (1999): Insects as human food: Gene DeFoliart discusses some nutritional and economic aspects. Crop Protection. 11(5), 359-399.
- Eisenreich R. (2007): Einfluss exogener Enzymzulagen bei Milchkühen auf die ruminale Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel, pansenphysiologische Parameter und die Gesamtverdaulichkeit. Diss. Technische Universität München
- FAO (2010): Edible Forest Insects - Human bites back. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations.

- Feng Y. Chen X., Wang S. (2001): Three edible Odonata species and their nutritive value. *Forest Research* 14(4), 421-424.
- Ferraretto L.F., Shaver R.D., Espineira M., Gencoglu H., Bertics S.J. (2011): Influence of a reduced-starch diet with or without exogenous amylase on lactation performance by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94, 1490-1499.
- Fischbacher E., Geist J., Windisch W. (2013): Aquatische Biomasse als Futter für Mollusken in der Aquakultur: Pilotstudie zur Messung von Nährstoffverdaulichkeiten am Tiermodell der Posthornschncke (*Planorbarius corneus*). In: Mair, C., Kraft, M., Wetscherek, W. und Schedle, K.: Tagungsband 12. BOKU Symposium Tierernährung 2013. Auf der Suche nach neuartigen Futtermitteln und Technologien in der Tierernährung. Eigenverlag, Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Wien; 111-116
- Godfray H.C., Beddington J.R., Crute I.R., Haddad L., Lawrence D., Muir J.F., Pretty J., Robinson S., Thomas S.M., Toulmin C. (2010): Food security: The challenge of feeding 9 billion people. *Sci.* 327, 812–818.
- Golovan S.P., Meidinger R.G., Ajakaiye A., Cottrill M., Wiederkehr M.Z., Barney D.J., Plante C., Pollard J.W., Fan M.Z., Hayes M.A., Laursen J., Hjorth J.P., Hacker R.R., Phillips J.P., Forsberg C.W. (2001): Pigs expressing salivary phytase produce low-phosphorus manure. *Nat. Biotechnol.* 19(8), 741-745.
- Herzog U. (2012): Transgenic Animals - Developments regarding transgenic animals since 2007 including risk assessment and status-quo in respect of cloned animals. Bundesministerium für Gesundheit, Sektion II, Wien (Hrsg).
- Jo J.K., Ingale S.L., Kim J.S., Kim Y.W., Kim K.H., Lohakare J.D., Lee J.H., Chae B.J. (2012): Effects of exogenous enzyme supplementation to corn- and soybean meal-based or complex diets on growth performance, nutrient digestibility, and blood metabolites in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 90, 3041-3048.
- Kerley M.S., Fahey G.C., Berger L.L., Michael Gould J., Lee Baker F. (1985): Alkaline hydrogen peroxide treatment unlocks energy in agricultural by-products. *Science* 230, 820-822
- Molero R., Ibara M., Calsamiglia S., Ferret A., Losa R. (2004): Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114, 91-104.
- Nadler C., Brugger D., Windisch W. (2013): Grünlandbiomasse als Rohstoff für die Extraktion hochwertiger Futterproteine für Monogastrier? In: Mair, C., Kraft, M., Wetscherek, W. und Schedle, K.: Tagungsband 12. BOKU Symposium Tierernährung 2013. Auf der Suche nach neuartigen Futtermitteln und Technologien in der Tierernährung. Eigenverlag, Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Wien; 83-87
- Nakagaki B.J., deFoliart G.R. (1991): Comparison of diets for mass-rearing *Acheta domestica* Orthoptera: Gryllidae) as a novelty food, and comparison of food conversion efficiency with values reported for livestock. *J. Econ. Entomol.* 84, 891-896.
- Newbold C.J., McIntosh F.M., Williams P., Losa R., Wallace R.J. (2004): Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114, 105-112.
- O'Sullivan L., Murphy B., McLoughlin P., Duggan P., Lawlor P.G., Hughes H., Gardiner G.E. (2010): Prebiotics from Marine Macroalgae for Human and Animal Health Applications. *Mar. Drugs* 8, 2038-2064.
- Roth F.X., Kirchgessner M. (1998): Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. *J. Anim. Feed Sci.* 7, 25-33.
- Sanderson K. (2011): Lignocellulose: A chewy problem. *Nature* 474, S12-S14.
- Simon O. (2010): An interdisciplinary study on the mode of action of probiotics in pigs. *J. Anim. Feed Sci.* 19 (2), 230-243.
- Smith P., Gregory P.J., van Vuuren D., Obersteiner M., Havlik P., Rounsevell M., Woodes J., Stehfest E., Bellarby J. (2010): Competition for land. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 365(1554), 2941–2957.
- Sunilkumar G., Campbell L.M., Puckhaber L., Stipanovic R.D., Rathore K.S. (2006): Engineering cottonseed for use in human nutrition by tissue-specific reduction of toxic gossypol. *PNAS* 103, 18054–18059.
- Weber G.M. (2012): Bedeutung, Nutzen und Effizienz von Zusatzstoffen in Futtermitteln. In: „24. Hülsenberger Gespräche“ – Zusatzstoffe in der Ernährung. Lübeck, 06.–08. Juni 2012. Hamburg: Wilhelm Schaumann Stiftung. 9–18.
- Windisch W., Schedle K., Pletzner C., Kroismayr A. (2008): Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J. Anim. Sci.* 86 (E. Suppl.): E140-E148.

Autorenanschrift

Prof. Dr. Wilhelm M. Windisch
Lehrstuhl für Tierernährung
Technische Universität München
Liesel-Beckmann-Straße 6; D-85354 Freising (Weihenstephan)
E-Mail: wilhelm.windisch@wzw.tum.de

Fermentation – eine alte Technologie mit großem Potential beim Monogaster

Karl Schedle¹, Manuel Kraller² und Elke Humer¹

¹ Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien, AT

² Institut für Lebensmittelwissenschaften, Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie, Universität für Bodenkultur Wien, AT

Einleitung

Als Fermentation oder Fermentierung (lat. fermentum „Gärung“) bezeichnet man die Metabolisierung von organischen Substraten durch Bakterien, Pilze oder Zellkulturen (Madigan et al. 2003). Die bekannteste Form der Fermentation ist neben der Produktion von Ethanol die im landwirtschaftlichen Bereich weit verbreitete Konservierung von Futtermitteln durch Silierung. Des Weiteren wird aber auch mit Hilfe dieser biotechnologischen Prozesse eine breite Palette an Produkten wie Enzyme, Antibiotika, Aminosäuren oder Bioethanol produziert. In der Landwirtschaft wird die Fermentation für die Konservierung, die Hygienisierung oder auch zur Verbesserung der Verdaulichkeit von Nährstoffen in Futtermitteln eingesetzt. Neben der Lagerung von Getreide in der Form von Silierung, oder der Konservierung des ganzen Kornes in gasdichten Silos, rückte in den letzten Jahren vor allem für Schweineproduzenten die Fermentierung von Allein- oder Einzelfuttermitteln in den Focus. Hierbei soll ein mikrobieller Aufschluss der Futterkomponenten eine Erhöhung des Futterwerts bewirken (Canibe & Jensen 2003; Jørgensen et al. 2010).

Die in den letzten Jahren gestiegenen Futterkosten beeinflussen maßgeblich die Wirtschaftlichkeit in der Tierproduktion. In Österreich und Bayern wird in der Mastschweineproduktion vor allem aus Kostengründen Mais in feuchter Form auf den Betrieben für die Lagerung konserviert. Diese Lagermöglichkeit von Feuchtgetreide findet zunehmend auch in der Legehennenhaltung Anwendung. Aus diesem Grund soll im folgenden Beitrag vor allem der Einfluss der Konservierungsform von Mais (Mais Kornsilage vs. Ganzkornsilage) auf deren Nähr- und Mineralstoffverdaulichkeit erörtert werden. Darüber hinaus sollen neue Einsatzmöglichkeiten des Fermentationsprozesses am Beispiel der Weizenkleie aufgezeigt werden.

Fermentation und Nährstoffverdaulichkeit

Grundsätzlich sollte bei der Fermentierung von Futtermischungen oder Einzelfuttermitteln eine „gerichtete“ Fermentation, welche mittels Zusatz von bestimmten Milchsäurebakterien bei einem geregelten Temperatur/Feuchtigkeitsmilieu für eine bestimmte Zeitdauer erfolgt, einer „unkontrollierten“ Fermentation vorgezogen werden (Song et al. 2008). Des Weiteren zeigten Versuche, dass sich eine fraktionierte Fermentierung von Einzelfuttermitteln oder der Getreidefraktion positiver auf die zootecnischen Parameter der Tiere auswirkte, als eine Fermentation der gesamten Futtermischung (Canibe & Jensen 2007). Eine plausible Erklärung hierfür scheint die durch den Fermentationsprozess hervorgerufene Decarboxylierung der in der Futterration enthaltenen freien Aminosäuren zu sein. Der Abbau kann bis zu 40% der im Futter vorkommenden freien Aminosäuren ausmachen (Canibe et al. 2007). In Folge kommt es zu einer nicht bedarfsgerechten Versorgung der Tiere mit Lysin (Canibe &

Jensen, 2010). Weiters werden auch die beobachteten Rückgänge in der täglichen Futtermittelaufnahme durch die erhöhten Gehalte an biogenen Aminen wie Cadaverin und den damit verbundenen schlechteren Geschmack des Futters begründet (Canibe & Jensen, 2003; 2010).

Eine Fermentation von Einzelfuttermitteln kann auch in Form einer Silierung oder Konservierung durch Luftabschluss ohne Zugabe von Flüssigkeiten oder mittels thermischer Regulation erreicht werden. In Österreich und Bayern wird diese Art der Fermentation vor allem zur kostengünstigen Lagerung von Feuchtmais herangezogen.

In einer Versuchsreihe unseres Institutes wurden die Auswirkungen unterschiedlicher Konservierungsverfahren von Mais (Trocknung, Maiskornsilierung (MKS), Ganzkornsilierung (GKS)) mit und ohne Phytasezusatz auf die scheinbare Gesamttraktverdaulichkeit der Roh Nährstoffe untersucht. Die Gesamttraktverdaulichkeit der Trockenmasse und der organischen Substanz von Mais wurde weder durch den Silierprozess noch durch den Phytasezusatz beeinflusst (Humer et al. 2013). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Pedersen und Stein (2010). Auf Basis der ilealen Verdaulichkeit konnten in der Literatur hingegen Verbesserungen bei fermentiertem Sojaprotein und hier vor allem bei der Protein- bzw. Aminosäureverdaulichkeit festgestellt werden (Min et al. 2009). Im Gegensatz dazu stellten Pedersen und Stein (2010) eine Verringerung der ilealen Proteinverdaulichkeit in fermentiertem Futter fest. Unterschiede in den verwendeten Futtermitteln, in der Zusammensetzung der Versuchsrationen und den vorliegenden Inositolphosphat-Nährstoffkomplexen, könnten hierfür verantwortlich sein.

In einem an die Praxis angelehnten Verdaulichkeitsversuch mit restriktiv gefütterten Mastschweinen (35 kg - 56 kg LM) in dem die konservierten Maisformen kurz vor der Fütterung mit einem bedarfsdeckenden Eiweißergänzer basierend auf Sojaextraktionsschrot HP und Gerste versetzt wurden, konnten wir eine um durchschnittlich 11,7% verbesserte Tageszunahme ($p < 0,1$) und eine um 7,0% verbesserte Futtermittelnutzung ($p > 0,1$) verursacht durch die beiden Fermentationsformen (Maiskornsilierung bzw. Ganzkornsilierung) feststellen (Humer und Schedle 2013). Die Literatur berichtet von widersprüchlichen Ergebnissen zu dieser Thematik. Auch Liu et al. 2007 erreichten eine verbesserte Tageszunahme und Futtermittelnutzung durch den Einsatz von fermentiertem Sojaschrot im Ferkelfutter. Im Gegensatz dazu stellten Canibe und Jensen (2007) eine numerische Verschlechterung der Futtermittelnutzung sowohl in einer fermentierten Ergänzungsfuttermischung (31% Gerste, 31% Weizen, 22% Sojaschrot, 8% Fischmehl, 5% Fett) als auch bei einem fermentierten Alleinfutter im Vergleich zu trocken gefütterten Schweinen fest. Canibe und Jensen (2003) berichten wiederum von einer verringerten täglichen Futtermittelaufnahme und einer dadurch bedingten schlechteren Tageszunahme bei gleichbleibender Futtermittelnutzung bei der Verfütterung von fermentiertem Flüssigfutter im Vergleich zu Trockenfutter. Die Autoren begründen die schlechte Futtermittelaufnahme vor allem durch verringerte Schmackhaftigkeit des fermentierten Futters.

Grundsätzlich kann die Fermentationstechnologie zu einer Verbesserung der Nährstoffverdaulichkeit bei Futtermitteln und somit zu höheren zootecnischen Leistungen führen. Dennoch besteht vor allem bei der Fermentation von flüssigem Futter noch erheblicher Forschungsbedarf, um diesen Prozess zu optimieren.

Das Potential der Fermentation zur Steigerung der Calcium- und Phosphorverdaulichkeit in pflanzlichen Futtermitteln am Beispiel unterschiedlicher Maisfermente

Phosphor (P) liegt in Pflanzen Großteils als Phytat (*myo*-Inositol-Hexakisphosphat), einem Ester aus Phosphorsäure und Inositol, vor (Greiner & Egli, 2003). Im getrockneten Maiskorn liegen 60 bis 90% des enthaltenen P in dieser vom monogastrischen Tier kaum nutzbaren Form dar (Nuss & Tanumihardjo, 2010), wobei der Gehalt durch verschiedene Behandlungsverfahren minimiert werden kann (Blaabjerg et al. 2010). In zwei nach den Richtlinien der GfE (1994) durchgeführten Verdaulich-

keitsversuchen mit drei unterschiedlichen Maiskonserven konnte wir einen positiven Einfluss des Fermentationsprozesses auf die scheinbare P-Verdaulichkeit beim Mastschwein feststellen (Humer et al. 2013). Die Konserven wiesen folgende Trockenmassegehalte auf: Mais 88%, MKS 78% und GKS 75%. Die Silierung von Mais erhöhte die P-Verdaulichkeit im Vergleich zum getrockneten Mais Korn, sowohl bei vorhergehender Vermahlung (MKS: +52%) als auch bei Ganzkornsilierung (GKS: +30%) (Tabelle 1). Auch beim Parameter Calcium (Ca)-Verdaulichkeit konnte eine Steigerung um durchschnittlich 15% bei den fermentierten Maiskonserven verzeichnet werden.

Eine Supplementierung mit 750 FTU/kg einer *E. coli* Phytase führte zu einer Erhöhung der P-Verdaulichkeit (Tabelle 2). Obwohl die Phytase-induzierte Steigerung im fermentierten Mais Korn mit +37% in MKS und +51% in GKS geringer war als im getrockneten Mais (+74%), wiesen dennoch die fermentierten Maiskonserven höhere absolute P-Verdaulichkeitswerte als der getrocknete Mais auf. Auch in diesem Versuch war eine 9% höhere Ca-Verdaulichkeit bei fermentiertem Mais erkennbar, der Phytasezusatz bewirkte hingegen keine signifikante Steigerung. Über den Harn wurden sowohl in Folge des Fermentationsprozesses als auch des Phytasezusatzes geringere Ca-Mengen ausgeschieden, was auf eine verbesserte Nutzung des aufgenommenen Ca in Folge erhöhter P-Verdaulichkeit hinweist.

Tabelle 1: P- und Ca-Verdaulichkeit, sowie P- und Ca- Ausscheidung über Harn ohne Phytasezusatz (Humer et al. 2013)

Parameter	Konservierungsform			P-Wert	P-Wert Kontrast ¹⁾
	Mais	MKS	GKS		
P-Verdaulichkeit	0,27 ^b	0,41 ^a	0,35 ^a	0,0003	0,0001
Ca-Verdaulichkeit	0,59 ^b	0,69 ^a	0,67 ^a	<0,0001	<0,0001
P Harn (mg d ⁻¹)	7,1	8,6	6,9	0,2373	0,4861
Ca Harn (g d ⁻¹)	2,25 ^(ab)	2,0 ^(b)	2,33 ^(a)	0,0836	0,5347

¹⁾ Kontrast fermentierter vs. getrockneter Mais

Tabelle 2: P- und Ca-Verdaulichkeit, sowie P- und Ca- Ausscheidung über Harn mit Phytasezusatz (Humer et al. 2013)

Parameter	Konservierungsform			P-Wert	P-Wert Kontrast ¹⁾
	Mais	MKS	GKS		
P-Verdaulichkeit	0,47 ^b	0,56 ^a	0,53 ^{ab}	0,0039	0,0023
Ca-Verdaulichkeit	0,67 ^b	0,73 ^{ab}	0,73 ^a	0,0221	0,0081
P Harn (mg d ⁻¹)	15,9 ^b	24,8 ^a	14,6 ^b	0,0008	0,0624
Ca Harn (g d ⁻¹)	1,43 ^a	0,85 ^b	1,06 ^b	0,0002	0,0002

¹⁾ Kontrast fermentierter vs. getrockneter Mais

Ein möglicher Grund für die Steigerung der Mineralstoffverdaulichkeit könnte in der Aktivierung der nativ im Maiskeimling enthaltenen Phytase in Folge der pH-Wert-Senkung liegen (Kozłowska et al. 1996; Konietzny & Greiner, 2002). Weiters sollen auch Milchsäurebakterien in der Lage sein den Gehalt an Phytat-P zu verringern (Lopez et al. 2000; Hotz & Gibson 2001; Skrede et al. 2007). Da in keiner der Maiskonserven Phytaseaktivität detektierbar war (<80 FTU/kg), scheinen vor allem die Milchsäurebakterien für den Abbau des Phytat-P bedeutend zu sein.

Somit kann zusammengefasst werden, dass Zulagen an mineralischem Phosphor durch die in Folge der Silierung des Mais Kornes erhöhte P-Verdaulichkeit reduziert werden können. Darüber hinaus werden exzessive P-Ausscheidungen über den Kot reduziert und somit die Umwelt entlastet. Eine weitere Verbesserung ist durch den Zusatz mikrobieller Phytase erreichbar. Die durch den Fermentationsprozess entstandenen Vorteile bleiben jedoch weiterhin bestehen.

Ausweitungsmöglichkeiten des Einsatzes von industriellen Nebenprodukten in Futtrationen für monogastrische Nutztiere durch Fermentation am Beispiel der Weizenkleie

Weizenkleie fällt bei der Erzeugung von Mehl an. Die Verwendung von Weizenkleie beschränkt sich derzeit vorwiegend auf den diätetischen Einsatz in der Humanernährung sowie als Futtermittel. Andere Einsatzbereiche konnten bisher aus ökonomischer und wissenschaftlicher Sicht nicht realisiert werden. Da Kleie jedoch über einige wertvolle Inhaltsstoffe (Protein, Mengen- und Spurenelemente) verfügt, ist eine effizientere Nutzung dieses Nebenstroms der Lebensmittelindustrie wünschenswert und kann einen wesentlichen Beitrag zur Bereinigung der Nahrungsmittelkonkurrenz zwischen Mensch und Tier leisten.

Weizenkleie wird bisher nur in kleinerem Umfang und ohne weitere Modifikation dem Futter beigegeben. Dies ist dadurch bedingt, dass vor allem die Fraktion der Nahrungsfaser, welche in der Weizenkleie bis zu 50% der Nährstoffe beträgt, vom tierischen Organismus nicht verwertet werden kann. Durch eine „gerichtete“ Fermentation sollen nun die antinutritiven Eigenschaften der schwer fermentierbaren Kleie reduziert werden, um so einen Mehrwert dieses Produktes zu generieren. Zum einen soll auch der Phytat-gebundene Phosphor durch den Prozess der Fermentation teilweise verfügbar gemacht werden, zum anderen sollen unverdauliche Bestandteile (z.B. Hemicellulosen) möglichst in Einzelbausteine zerlegt werden, um den Anteil an verwertbaren Nährstoffen zu erhöhen.

In einer geplanten Forschungsarbeit soll der Nährwert von Weizenkleie durch Fermentation und Extrusion gesteigert und aus ökonomischer und ökologischer Sicht eine nachhaltige Verwendung dieses Nebenproduktes erreicht werden. Erste *in-vitro* Verdaulichkeitsergebnisse nach der Methode von Boisen und Fernandez (1997) zeigen, dass durch eine „gerichtete“ Fermentationen mit unterschiedlichen Bakterienarten die Verdaulichkeit der organischen Substanz sowohl positiv als auch negativ beeinflusst werden kann (Kraler et al. 2013). Die Umsetzung der gewonnenen Forschungsergebnisse sollte – unter Anwendung eines gezielten Fermentationsprozesses – zukünftig auch bei schwer fermentierbaren Futtermitteln einen höheren Futterwert generieren können.

Schlussfolgerungen/Ausblick

Aus den bis dato in der Literatur veröffentlichten Versuchen lässt sich ableiten, dass die Fermentation von Einzelfuttermitteln zu einer Verbesserung der zotechnischen Leistungen und somit zu einem geringeren Verbrauch von Ressourcen wie Phosphor oder Protein führen kann. In weiterer Folge trägt das Verfahren der Fermentation von Futtermitteln somit zu einer Reduzierung der Umweltbelastung bei der Produktion von tierischen Lebensmitteln bei. Zukünftig scheint durch eine „gerichtete“ Fermentation die Möglichkeit gegeben, faserreichen Futtermitteln wie zum Beispiel Weizenkleie, eine größere Bedeutung als Futtermittel in Rationen für monogastrischen Nutztiere zukommen zu lassen.

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.

Boisen, S., Fernandez, J.A., 1997. Prediction of total tract digestibility of energy in feedstuffs and pig diets by *in vitro* analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 68, 277-286.

Canibe, N., Jensen, B. B., 2003. Fermented and nonfermented liquid feed to growing pigs: effect on aspects of gastrointestinal ecology and growth performance. *Journal of Animal Science*, 81(8), 2019–2031.

Canibe, N., Jensen, B. B., 2007. Fermented liquid feed and fermented grain to piglets- effect on gastrointestinal ecology and growth performance. *Livestock Science*, 108(1-3), 198–201.

- Canibe, N., Virtanen, E., Jenses, B. B., 2007. Microbial and nutritional characteristics of pig liquid feed during fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 134, 108-123.
- Canibe, N., Jensen, B. B., 2010. Fermented liquid feed—Feed processing has a big impact on microbial degradation of free lysine during fermentation. *Livestock Science*, 133(1), 120–123.
- GfE, 1994. Die Bestimmung des verdaulichen Phosphors beim Schwein, In: Kirchgeßner, M. (Ed.), Mitteilung des Ausschusses für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, Proc. Soc. Nutr. Physiol., Weihenstephan, pp. 113-119.
- 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.
- Hotz, C., Gibson, R.S., 2001. Assessment of home-based processing methods to reduce the phytate content and phytate/zinc molar ratio of white maize (*Zea mays*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 692-698.
- Humer E., Schedle K 2013. unpublished data.
- Humer E, Wetscherek W., Mair C., Schedle K, 2013. Effect of maize conservation technique and phytase supplementation on total tract apparent phosphorus, calcium and nutrient digestibility in growing pigs. *Journal of Feed Science and Technology*. under revision.
- Jørgensen, H., Sholly, D., Pedersen, A. Ø., Canibe, N., & Knudsen, K. E. B., 2010. Fermentation of cereals—Influence on digestibility of nutrients in growing pigs. *Livestock Science*, 134(1), 56–58.
- 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.
- Kraler M., Schedle K., Domig K., Apprich S. Kneifel W., 2013. unpublished data
- Liu, X., Feng, J., Xu, Z., Lu, Y., & Liu, Y. (2007). The effects of fermented soybean meal on growth performance and immune characteristics in weaned piglets. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 31(5), 341.
- 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.
- Madigan M.T., Marinko J.M., Parker J., 2003. *Brock Mikrobiologie*. Spektrum, Akad. Verl., Berlin. ISBN: 3-8274-0566-1, 116.
- Min, B. J., Cho, J. H., Chen, Y. J., Kim, H. J., Yoo, J. S., Wang, Q., et al., 2009. Effects of replacing soy protein concentrate with fermented soy protein in starter diet on growth performance and ileal amino acid digestibility in weaned pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 22, 99–106.
- 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.
- Pedersen, C., Stein, H.H., 2010. Effects of liquid and fermented liquid feeding on energy, dry matter, protein and phosphorus digestibility by growing pigs. *Livestock Science* 134, 59-61.
- 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.
- Song, Y. S., Frias, J., Martinez-Villaluenga, C., Vidal-Valverde, C., de Mejia, E. G., 2008. Immunoreactivity reduction of soybean meal by fermentation, effect on amino acid composition and antigenicity of commercial soy products. *Food Chemistry*, 108(2), 571–581.

Autorenanschrift

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.schedle@boku.ac.at

Energy evaluation of pig feeds with emphasis on net energy

Jean Noblet

INRA, UMR Pegase, Saint-Gilles, FR

Introduction

The cost of feed is the most important cost of pig meat production (#60-70%) and the energy component represents the greatest proportion. Therefore, it is important to estimate precisely the energy value of feeds, either for least-cost formulation purposes or for adapting feed supply to energy requirements of animals. In addition, energy supply has an important impact on performance of animals. Evaluation of energy content of pig feeds is firstly and most commonly based on their DE or ME contents. However, the closest estimate of the "true" energy value of a feed corresponds to its NE content which takes into account differences in metabolic utilization of ME between nutrients. In addition, NE is the only system in which energy requirements and diet energy values are expressed on a same basis which should theoretically be independent of the feed characteristics. The objectives of this review paper are to present the available energy systems for pig feeds with emphasis given to NE systems and to evaluate their ability for predicting pig performance. Methodological aspects of energy evaluation of pig feeds and complementary information have been considered in previous reviews (Noblet et al., 2003; Noblet and van Milgen, 2004; Noblet, 2006).

Energy utilization

For most pig diets, the digestibility coefficient of energy (DCE) varies between 70 and 90% but the variation is larger for feed ingredients (10 to 100%). Most of the variation of DCE is related to the presence of dietary fiber (DF) which is less digestible than other nutrients (<50% vs 80-100% for starch, sugars, fat or protein) and which also reduces the apparent fecal digestibility of other dietary nutrients such as crude protein and fat. Consequently, DCE is linearly and negatively related to the DF content of the feed (Le Goff and Noblet, 2001). The coefficients relating DCE to DF are such that DF essentially dilutes the diet, at least in growing pigs (table 1). In other terms, even though DF is partly digested by the young growing pig, it provides very little DE to the animal. Digestibility of energy can be modified by technological treatments. Pelletting, for instance, increases the energy digestibility of feeds by about 1% (Noblet 2006; Le Gall et al. 2009). However, the improvement is more important for some ingredients such as full fat rapeseed or (high oil) corn for which pelletting improves the digestibility of fat with subsequent marked differences in their DE value between mash and pellet forms (Noblet, 2006).

Energy digestibility is also affected by animal factors. In growing pigs, DCE increases with increasing BW (Noblet 2006; Noblet et al. 2013) and the largest effect of BW is observed when adult sows either pregnant or lactating and (close to) ad libitum growing pigs are compared (Le Goff and Noblet 2001; Le Gall et al. 2009). The difference due to BW increase is the most pronounced for high fiber diets or ingredients. The negative effect of DF on DCE is then lower in adult pigs than in growing pigs (table 1). In the case of adult sows and "60 kg" growing pigs, the DE value is 1.8, 4.2, 6.0, 10.3 and 16.6% higher in sows for wheat, corn, soybean meal, wheat bran and corn gluten feed, respectively (Sauvant et al. 2004). This improvement of energy digestibility with BW is mainly related to an improved digestive utilization of DF. The effect of feeding level on DCE is negligible even when lactating sows and gestating sows fed at very different energy supplies are compared. Little information con-

cerning comparative digestibility in piglets and growing pigs is available. Considering that piglets are usually fed low-fiber diets for which the effect of BW is minimized, piglets can, from a practical point of view, be considered as growing pigs concerning the digestive utilization of energy.

The ME content of a feed is the difference between DE and energy losses in urine and gases (methane). In growing pigs, average energy loss in methane is equivalent to 0.4% of DE intake and is 2-3 times this amount in adult sows. Energy loss in urine represents a variable percentage of DE since urinary energy depends greatly on the urinary nitrogen excretion. At a given stage of production, urinary nitrogen excretion is mainly related to the (digestible) protein content of the diet (table 1). On average, it represents about 4% of the DE value. However, this mean value cannot be applied to single feed ingredients. The most appropriate solution is to estimate urinary energy (kJ/kg feed DM) from urinary nitrogen (g/kg feed DM) according to the following equation (in growing pigs):

$$\text{Urinary energy} = 192 + 31 \times \text{urinary nitrogen}$$

with urinary nitrogen representing 50% of digestible nitrogen or 40% of total nitrogen (Noblet et al. 2004).

Table 1: Effect of diet composition (g/kg dry matter) on energy digestibility (DCe, %), ME:DE coefficient (%) and efficiency of utilization of ME for NE of mixed diets for growth (k_g , %)^a

Equation	RSD	Source ^b
1 DCe = 98.3 - 0.090 x NDF	2.0	1
2 DCe = 96.7 - 0.064 x NDF	2.2	1
3 ME/DE = 100.3 - 0.021 x CP	0.5	1
4 $k_g = 74.7 + 0.036 \times \text{EE} + 0.009 \times \text{ST} - 0.023 \times \text{CP} - 0.026 \times \text{ADF}$	1.2	2

^a CP: crude protein, NDF: Neutral Detergent Fibre, EE: ether extract, ST: starch, ADF: Acid Detergent Fibre; RSD: Residual standard deviation

^b 1: Le Goff and Noblet 2001 (n=77 diets; equations 1 and 3 in 60 kg growing pigs and equation 2 in adult sows, respectively); 2: Noblet et al. 1994a (n=61 diets; 45 kg pigs)

Net energy is defined as ME minus heat increment associated with metabolic utilization of ME and to the energy cost of ingestion, digestion and some physical activity. Practically, it is calculated as the sum of measured retained energy and fasting heat production (Noblet et al. 1994a). This latter value, estimated as 750 kJ per kg of metabolic body size ($BW^{0.60}$) in the studies of Noblet et al. (1994a), has been confirmed in several later studies in our research group (Barea et al. 2010). The NE content, as a percentage of ME content (k) corresponds to the efficiency of utilization of ME for NE. The variations in k are due to differences in efficiencies of ME utilization between nutrients with the highest values for fat (~90%) and starch (~82%) and the lowest (~60%) for DF and crude protein; k as obtained in growing pigs is then directly dependent on diet chemical composition (n=61 diets; table 1) with positive effects of starch and fat on k and negative effects of DF and protein. Additional measurements conducted in pigs which differed for their BW and the composition of BW gain suggest that the efficiency of ME for NE is little affected by the composition of BW gain, at least under most practical conditions (Noblet et al. 1994b). Similarly, the ranking between nutrients for efficiencies is similar in adult sows fed at maintenance level and in growing pigs (Noblet et al. 1993). Finally, the heat increment associated with protein utilization, either retained as protein or catabolized, is constant (van Milgen et al., 2001) which means that the NE value of dietary CP is not dependent on its final utilization (deposition vs. deamination).

The NE measurements conducted on 61 diets by Noblet et al. (1994a) were also used to establish prediction equations relating dietary NE to different predictors such as DE or ME and chemical indicators or digestible nutrients; the most practical ones have been used for the establishment of the INRA & AFZ feeding tables (Sauvant et al. 2004) or the EvaPig software (www.evapig.com); they are listed in table 2. Comparable equations have also been produced by Schieman et al. (1972) and further applied/adjusted in the Dutch feeding tables (CVB).

Table 2: Equations for prediction of NE in feeds for growing pigs (NEg; 61 diets; MJ/kg dry matter and % of DM; adapted from Noblet et al. 1994a)

N°	Equation ^a
5	NEg2 = 0.121 DCP + 0.350 DEE + 0.143 ST + 0.119 SU + 0.086 DRes
6	NEg4 = 0.703 DE - 0.041 CP + 0.066 EE - 0.041 CF + 0.020 ST
7	NEg7 = 0.730 x ME - 0.028 x CP + 0.055 x EE - 0.041 x CF + 0.015 x ST

^a CP: crude protein, EE: ether extract, ST: starch, DCP: digestible CP, DEE: digestible EE, DRes: digestible residue (i.e., difference between digestible organic matter and other digestible nutrients considered in the equation).

Energy systems

Apart from direct measurement on pigs, the DE and ME values of raw materials can be obtained from feeding tables (Sauvant et al. 2004; EvaPig; NRC 2012). But the utilization of these tabulated values should be restricted to ingredients having chemical characteristics similar or close to those in the tables. However, practically, the chemical composition and therefore the energy value of most raw materials differ from those listed in the feeding tables. It is then advised to correct the energy value for differences in chemical composition between ingredients proposed in the tables and those actually available for least-cost formulation; the EvaPig tool has been proposed for such a purpose (www.evapig.com). As illustrated in the previous section, DCE is affected by BW of the animals. It is therefore appropriate to use DE and ME values adapted to each BW class. However, from a practical point of view, it is suggested to use only two values, one for "60 kg" pigs which can be applied to piglets and growing-finishing pigs and one for adult pigs applicable to both pregnant and lactating sows. The INRA & AFZ feeding tables propose such a differentiation (Sauvant et al. 2004) and the recalculation of both energy values according to the chemical characteristics of ingredients is possible from the EvaPig software (www.evapig.com). Finally, a rather frequent difficulty in feed evaluation consists in estimating the energy value of compound feeds when their ingredients composition is unknown. The best solution is then to use prediction equations based on chemical criteria (Le Goff and Noblet 2001; EvaPig) or estimates from near infrared or *in vitro* methods (Noblet and Jaguelin-Peyraud 2007).

All published NE systems for pigs combine the utilization of ME for maintenance and for growth or for fattening. The system proposed by Noblet et al. (1994a) and applied in the INRA & AFZ feeding tables (Sauvant et al. 2004) is based on a large set of measurements (61 diets) and the NE prediction equations that have been generated from these measurements (table 2) are applicable to ingredients and compound feeds and at any stage of pig production (Noblet, 2006). It is important to point out that different DE values or digestible nutrient contents should be used in growing-finishing pigs and adult sows with two subsequent NE values. Similarly, reliable information on digestibility of energy or of nutrients is absolutely necessary for an accurate prediction of NE content of pig feeds. In fact, this information represents the most limiting factor for predicting energy values of pig feeds. From that point of view, the lack of comprehensive information on effects of technology (pelletting, extrusion, enzymes addition, etc.) is a major limiting factor for getting accurate estimates of energy values for swine whatever the system used.

Comparison of energy systems

Assuming that NE represents the best estimate of the "true" energy value of feeds and according to differences in efficiencies of nutrients ME for NE, the energy value of protein-rich or fibrous feeds is overestimated when expressed on a DE (or ME) basis. On the other hand, fat or starch sources are underestimated in DE and ME systems (Table 3). With regard to NE for pigs, several systems have been proposed over the last 40-50 years. The INRA proposal (Noblet et al. 1994a; 2004) is probably

the most advanced system which has been validated by calorimetry measurements (figure 1) and growth trials (Noblet, 2006; table 4).

Indeed, as previously mentioned, it is extremely important to use the same energy system for expressing the diet energy values and the animal energy requirements. From that point of view, the only energy system in which the requirements are the most independent on diet characteristics should be the NE system. This is illustrated by several growth trials conducted with variable dietary fat or CP levels that show that the energy cost of growth or the daily energy requirement are independent on diet composition when expressed on a NE basis. On the other hand, on DE or ME bases, the energy cost is increased when CP content is increased or decreased when fat content is increased (Table 4). In other terms, relative to the NE system, the DE and ME systems are less able to predict the performance of growing pigs and reproductive sows.

Table 3: Relative DE, ME and NE values of ingredients for growing pigs^a

	DE	ME	NE	NE/ME, %
Animal fat	243	252	300	90
Corn	103	105	112	80
Wheat	101	102	106	78
Reference diet	100	100	100	75
Pea	101	100	98	73
Soybean (full-fat)	116	113	108	72
Wheat bran	68	67	63	71
Soybean meal	107	102	82	60

^a From Sauvant et al. (2004). Within each system, values are expressed as percentages of the energy value of a diet containing 68% wheat, 16% soybean meal, 2.5% fat, 5% wheat bran, 5% peas and 4% minerals and vitamins.

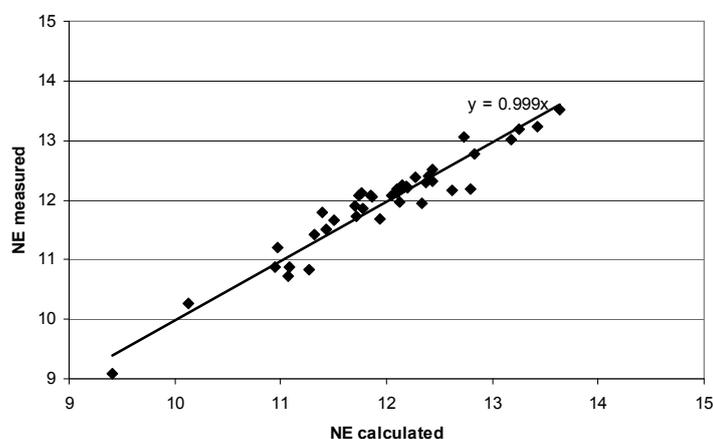


Figure 1: Relationship between measured NE values of compound feeds (n=41; indirect calorimetry method) and NE calculated according to NE prediction equations of Noblet et al. (1994a) (INRA data)

Energy requirements

Energy requirements are expressed on different bases. In *ad libitum* fed pigs, they consist mainly in fixing the diet energy density according to regulation of feed intake (appetite), growth potential of the pig, climatic factors or economical considerations. In restrictively fed growing pigs or in reproductive sows, it is necessary to define feeding scales according to expected performance. In more sophisticat-

ed or more theoretical approaches (factorial approach or modeling approach), it is necessary to determine the components of energy requirements (maintenance, growth, milk production, thermoregulation, etc.). Whatever the level of approach, most trials and recommendations were conducted according to DE and ME estimates for feeds and conclusions were expressed as DE or ME values. These recommendations were obtained with rather conventional feeds, i.e. cereals-soybean meal based diets whose efficiency of ME utilization in growing pigs is close to 74%; this latter value also corresponds to the average efficiency obtained on 61 diets by Noblet et al. (1994a). The proposal is then to estimate the NE recommendations (diet energy density, daily energy requirements, components of energy requirements, etc.) as DE or ME requirements multiplied by 0.71 or 0.74, respectively. This proposal is applicable at any stage of pig production, including pregnant or lactating sows, since NE value is calculated for any stage from one single set of equations obtained in growing pigs (Noblet, 2006). However, DE or ME or digestible nutrients may differ between stages of production, i.e. growing-finishing pigs vs reproductive adult sows, with subsequent different NE values.

Table 4: Performance of growing-finishing pigs according to energy system and diet characteristics^a

Energy system	DE	ME	NE
Trial 1: Added fat (%)			
0	100	100	100
2	100	100	100
4	99	99	100
6	98	98	100
Trial 2: crude protein content (30-100 kg)			
Normal	100	100	100
Low	96	97	100
Trial 3: crude protein content (90-120 kg)			
Normal	100	100	100
Low	97	98	100

^a Energy requirements (or energy cost of BW gain) for similar daily BW gain and composition of BW gain; values are expressed relative to the energy requirement (or energy cost of BW gain) in the control treatment (considered as 100; values in bold characters); from Noblet (2006), Wu et al. (2007) and unpublished data

Conclusion

This review indicates that energy value of pig feeds can be measured according to different criteria (DE, ME or NE). The most advanced and practically applicable energy evaluation system appears the NE system proposed by Noblet et al. (1994a) for which energy values of most ingredients used in pig diets are available (Sauvant et al. 2004). In addition, these authors have proposed energy values that are different for growing and adult pigs and also a tool for adjusting the energy values (DE, ME and NE) for variability in chemical composition of raw materials (EvaPig: www.evapig.com). This system has been widely used in Europe, North America (NRC, 2012), Brazil (Rostagno et al. 2011), PR of China and in many major international feed companies. This review also indicates that the relative energy density or the hierarchy between ingredients depends on the energy system with considerable variations between ingredients or compound feeds when either fat or crude protein contents deviate from values in standard diets. Even it has not been considered in detail in this review, the change from DE or ME systems to a NE system is usually associated with a shift in diet composition with lower crude protein contents and slightly higher fat levels. Finally, significant improvements in prediction of energy value of pig feeds will come from an improved knowledge of energy and nutrients digestibility, which depends on chemical characteristics of the feed, (bio)technological treatments and animal factors.

Improvements in energy evaluation will also come from proposals for rapid and non-invasive prediction methods such as *in vitro* or NIR methods.

References

- Barea R., Dubois S., Gilbert H., Sellier P., van Milgen J., and Noblet J. (2010): Energy utilization in pigs selected for high and low residual feed intake. *J. Anim. Sci.* 88, 2062-2072.
- EvaPig: a calculator of energy, amino acid and phosphorus values of ingredients and diets for growing and adult pigs. www.evapig.com
- Le Gall M., Warpechowski M, Jaguelin-Peyraud Y., and Noblet J. (2009): Influence of dietary fibre level and pelleting on digestibility of energy and nutrients in growing pigs and adult sows. *Animal* 3, 352-359.
- Le Goff G., and Noblet J. (2001): Comparative digestibility of dietary energy and nutrients in growing pigs and adult sows. *J. Anim. Sci.* 79, 2418-2427.
- Noblet J., Fortune H., Shi X.S., and Dubois S. (1994a): Prediction of net energy value of feeds for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 72, 344-354.
- Noblet J., Shi X.S., and Dubois S. (1993): Metabolic utilization of dietary energy and nutrients for maintenance energy requirements in pigs: basis for a net energy system. *Br. J. Nutr.* 70, 407-419.
- Noblet J., Shi X.S., and Dubois S. (1994b): Effect of body weight on net energy value of feeds for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 72, 648-657
- Noblet J., Bontems V., and Tran G. (2003): Estimation de la valeur énergétique des aliments pour le porc. *INRA Prod. Anim.* 16, 197-210.
- Noblet J., Sève B., and Jondreville C. (2004): Nutritional values for pigs. In: Tables of composition and nutritional value of feed materials: pigs, poultry, cattle, sheep, goats, rabbits, horses, fish, Eds. D. Sauvant, J.M. Perez and G. Tran. Wageningen Academic Publishers, Wageningen and INRA Editions, Versailles. pp. 25-35.
- Noblet J., and van Milgen J. (2004): Energy value of pig feeds: Effect of pig body weight and energy evaluation system. *J. Anim. Sci.* 82, 13, E. Suppl., E229-E238.
- Noblet J. (2006): Recent advances in energy evaluation of feeds for pigs. In: Recent advances in Animal Nutrition 2005, Eds. P.C. Garnsworthy and J. Wiseman. Nottingham University Press, Nottingham. pp. 1-26.
- Noblet J., and Jaguelin-Peyraud Y. (2007): Prediction of digestibility of organic matter and energy in the growing pig from an *in vitro* method. *Anim. Feed Sci. Technol.* 134: 211-222
- Noblet J., Gilbert H., Jaguelin-Peyraud Y., and Lebrun T. (2013): Evidence of genetic variability for digestive efficiency in the growing pig. *Animal* (in press)
- NRC (2012): Nutrient requirements of swine. The National Academy Press, Washington, D.C.
- Rostagno H.S., Albino L.F.T., Donzele J.L., Gomes P.C., Oliveira R.F., Lopes D.C., Ferreira A.S., Barreto S.L.T., and Euclides R.F. (2011): Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3rd edition. UFV, Viçosa, MG, Brazil.
- Sauvant D., Perez J.M., and Tran G. (2004): Tables of composition and nutritional value of feed materials: pigs, poultry, cattle, sheep, goats, rabbits, horses, fish. Wageningen Academic Publishers, Wageningen and INRA Editions, Versailles.
- Schiemann R., Nehring K., Hoffmann L., Jentsch W., and Chudy A. (1972): Energetische Futterbeurteilung und Energienormen. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin, 344 pp.
- Van Milgen J., Noblet J., and Dubois S. (2001): Energetic efficiency of starch, protein, and lipid utilization in growing pigs. *J. Nutr.* 131, 1309-1318.
- Wu Z., Li D., Ma Y., Yu Y., and Noblet J. (2007): Evaluation of energy systems in determining the energy cost of gain of growing-finishing pigs fed diets containing different levels of dietary fat. *Arch. Anim. Nutr.* 61:1-9

Corresponding author

Jean Noblet
INRA, UMR 1348 Pegase
F-35590 Saint-Gilles (France)
E-mail: jean.noblet@rennes.inra.fr

Möglichkeiten der Futterwertverbesserung beim Geflügel

Heinz Jeroch

Universität Warmia und Mazury in Olsztyn, Department für Geflügelwissenschaften, Olsztyn, PL

Einleitung und Problemstellung

Für die Erzeugung von Eiern und Geflügelfleisch steht weltweit ein sehr leistungsfähiges Tiermaterial zur Verfügung. Legehybriden können inzwischen 16 Legemonate genutzt werden. Die Leistungsdaten von Braunleger für diese lange Legeperiode betragen (Lohmann Tierzucht, 2011): 405 Eier, 26,5 kg Eimasse (jeweils Anfangshenne), 65,5 g mittleres Eigewicht, 2,1 kg Futter/kg EM. In der Broilermast werden für schnellwachsende Hybriden (im Mittel beider Geschlechter) in 5 Mastwochen 2,1 kg Lebendgewicht und 1,6 kg Futter/kg Zunahme als Leistungsziele genannt (ROSS, 2008). Das genetische Potenzial von Legehennen und Mastgeflügel (Broiler, Puten, Enten) kann nur dann nahezu ausgeschöpft werden, wenn - neben der Sicherstellung optimaler Haltungsverhältnisse und weiterer Anforderungen - die Tiere Futterrationen erhalten, die hochverdaulich sind sowie eine hohe Nährstoff- und Energiedichte in ernährungsphysiologisch optimalen Relationen aufweisen (Jeroch et al., 2013). Hinzu kommen weitere Anforderungen an das Futter, wie hygienisch unbedenklich, gesundheitsfördernd, keine nachteiligen Effekte auf die Produktqualität, umweltfreundlich. Diese Futteransprüche schränken die mögliche verfügbare Einzelfuttermittelpalette für Geflügelrezepturen deutlich ein. Sie erfordern bei verschiedenen Rohstoffen außerdem Einsatzrestriktionen bis zum Einsatzverzicht, insbesondere wegen antinutritiver und unerwünschter Inhaltsstoffe.

Im Geflügelmischfutter (BR Deutschland) kommen derzeit die aus Tabelle 1 zu entnehmenden Rohstoffe zum Einsatz. Es dominieren eindeutig Getreide (hauptsächlich Weizen und Körnermais) und Sojaextraktionsschrot in den Rezepturen. Diese Rohstoffe sind gleichfalls wertvolle Nahrungsmittel bzw. Nahrungsmittelausgangserzeugnisse; die Getreidearten werden außerdem für die Bioethanolherstellung (!!!) verwendet.

Tabelle 1: Rohstoffverbrauch für Geflügelmischfutter (DVT, 2013)

Rohstoff/-gruppe	Einsatzmengen in Mio. t in		Rohstoffherkunft
	Legehennenfutter	Hühnermastfutter	
Getreide, (Leguminosen)	1,4 (61)	1,6 (62)	D, EU,
Sojaextraktionsschrot	0,3 (13)	0,5 (19)	Südamerika, USA, (EU)
Andere Extraktionsschrote (Raps, Sonnenblumen)	0,15 (6,5)	0,1 (4)	D, EU
Nebenprodukte der Lebensmittelindustrie	0,15 (6,5)	0,15 (5,5)	D, EU
Öle und Fette	0,1 (4,3)	0,15 (5,5)	D, EU, Drittländer
Mineralische Rohstoffe	0,2 (8,7)	0,1 (4)	D, EU, Drittländer (Phosphate)
Summe	2,3 (100)	2,6 (100)	

Die verfügbaren Futterressourcen sind insgesamt begrenzt. Deshalb müssen die Futternährstoffe mit hoher Effizienz bei der Erzeugung tierischer Nahrungsmittel genutzt werden. Beim Geflügel steht eine hohe Konvertierung des Futterproteins in Ei- und Fleischprotein im Vordergrund. Eigene Berechnungen (Jeroch et al., 2013) ergaben die folgende mittlere Nutzungseffizienz (Anteil des Futterproteins

das in Ei- und Geflügelfleischprotein wieder gefunden wird): Ei $\approx 33\%$, Broilerfleisch $\approx 26\%$, Putenfleisch $\approx 24\%$ und Entenfleisch $\approx 20\%$. Zur Verbesserung der Konvertierung sind alle Möglichkeiten im Rahmen der Geflügelernährung zu nutzen. Maßnahmen zur Futterwertverbesserung können hierzu messbare Beiträge leisten. Des Weiteren ergeben sich dadurch erweiterte Einsatzmöglichkeiten für konventionelle Futtermittel bzw. es werden neue Rohstoffe für die Geflügelfütterung verfügbar.

Ziele und Methoden zur Futterwertverbesserung

Die wesentlichen **Ziele** zur **Futterwertverbesserung** beim Geflügel lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Sicherung einer hohen Futterraufnahme, Steigerung des Futterverzehr,
- Anreicherung der Futtermittel mit wertvollen Futterinhaltsstoffen, Verminderung der Anteile nicht- bzw. schwerverdaulicher Futterinhaltsstoffe,
- Beseitigung bzw. Reduzierung von antinutritiven Futtermittelbestandteilen und unerwünschten Stoffen,
- Optimierung der Verdauungsprozesse, Erhaltung der Darmgesundheit, Verbesserung der Nährstoffresorption und Erhöhung des Futterwertes sowie
- Verbessertes Hygienestatus von Rohstoffen und Mischungen.

Nach wie vor sind klassische Methoden/Verfahren aktuell. Sie wurden in den letzten Jahren weiter entwickelt und durch „Neue“ ergänzt. Zur Futterwertverbesserung von Einzelfuttermitteln und Futtermischungen für Geflügel sind vor allem die folgenden **Methoden/Verfahren** bedeutsam:

- Konventionelle Züchtungsverfahren/gentechnische Methoden,
- [Biologische Behandlungen (z.B. Fermentieren)],
- Ergänzung mit Futterzusatzstoffen (Futterenzyme, Probiotika, organische Säuren, Phytobiotika),
- Chemische Behandlungen (u.a. Dekontamination),
- Technische Bearbeitungen/Behandlungen (Reinigung, Zerkleinern, Entspelzen/Schälen, Pelletieren, Toasten, Hygienisierung, Extrudieren, Expandieren u.a.).

Rapssaat und Rapsfuttermittel als Beispiel für gezielte und erfolgreiche Futterwertverbesserungen

Erfolge der Rapszüchtung

Die Rapszüchtung in Europa und in Kanada hat in den letzten Jahrzehnten einen enormen Beitrag zur Qualitätsverbesserung der Rapssaat für die Human- und Tierernährung geleistet (Tabelle 2). Aus einem technischem Öl mit hohem Anteil ($\approx 50\%$) der ernährungsphysiologisch problematischen Erucasäure (wird im Körperfett darunter den Herzlipiden eingelagert und kann Herzmuskelschädigungen bewirken) wurde ein hochwertiges Nahrungsmittel und ein wertvoller Futterinhaltsstoff. Die bei der Ölgewinnung aus der Rapssaat anfallenden Nebenprodukte, Rapsextraktionsschrot und Rapskuchen/Rapsxpeller, sind durch die deutliche Glucosinolatabsenkung erst Futtermittel für monogastrische Nutztiere geworden. Denn bereits 2-3% Rapsfuttermittel (Rapssaat, Rapskuchen bzw. Raps-

extraktionsschrot) von den konventionellen (alten) Sorten in Geflügelalleinfutter wirkten sich negativ auf Schilddrüsenfunktion und Leistungen aus. Lediglich in der Wiederkäuerfütterung war ein begrenzter Einsatz dieser Nebenprodukte (Rapskuchen, Rapsextraktionsschrot) möglich.

Tabelle 2: Ergebnisse der Qualitätszüchtung beim Raps¹

Zuchtprodukte, Zuchtziele	Qualitätsbewertung
Traditionelle Sorten	Hoher Gehalt an Erucasäure im Öl, hohe Konzentration an antinutritiven Substanzen in der fettfreien Trockenmasse, insbesondere Glucosinolate, Sinapin und weitere
0- bzw. Einfachqualitätssorten - 1. Schritt der Qualitätszüchtung; 0-Winterraps seit 1973 in Deutschland im Anbau	Sorten (Winterraps in Europa, Sommerraps in Kanada (Canola) und Nordeuropa) mit minimalem Gehalt an Erucasäure (von 50% auf < 2% der Gesamtfettsäuren)
00- bzw. Doppelqualitätssorten – 2. Schritt der Qualitätszüchtung; 00-Winterraps in Deutschland ab 1981 im Anbau; 00-Sommerraps bereits früher (Canada, Nordeuropa)	Sorten mit < 2% Erucasäure und deutlicher Reduzierung des Gehaltes an Glucosinolaten (von $\approx 100 \mu\text{mol}$ auf weniger als $18 \mu\text{mol/g}$ Saat bei 91% TM)
Neue 00-Typen (verbesserte Doppelqualität) bei Winter- und Sommerraps	< $10 \mu\text{mol}$ Glucosinolate/g Saat (91% TM)
Gelbschalige Sorten (Dreifachqualitätssorten, 000-Typ), Genotypen bei Sommerraps (Canola) vorhanden	Reduzierter Schalenanteil; dadurch in der Körner-TM $\approx 20\text{-}30\%$ weniger Gesamtfaser und $\approx 50\%$ weniger Lignin

¹Literatur s. Jeroch et al. (2008)

Bei den neuen Doppelqualitätssorten (s. Tabelle 2) ist der Glucosinolatgehalt weiter reduziert. Dieser positive Züchtungseffekt und der Toastprozess in den modernen Ölmühlen bewirken, dass die Glucosinolatkonzentration in den Extraktionsschroten inzwischen ein relativ niedriges Niveau aufweist. Eine mehrjährige Untersuchungsreihe zur Rapsextraktionsschrotqualität aus deutscher Erzeugung ergab mittlere Glucosinolatgehalte zwischen 6,8 und 9,3 $\mu\text{mol/g}$ Extraktionsschrot (Weber, 2010). In Polen und Kanada stellen sich die Pflanzenzüchter noch höhere Ziele bei der Glucosinolatreduzierung. Entsprechend geringer sind auch die Gehalte in den Extraktionsschroten.

Von den GLS-armen Extraktionsschroten lassen sich problemlos höhere Anteile in Geflügelfuttermischungen integrieren, wie die Ergebnisse in Tabelle 3 zeigen.

Ein neueres Zuchtziel beim Raps sind Genotypen mit vermindertem Gesamtfaser- und Ligningehalt (sogenannte Dreifachqualität, s. Tabelle 2). Dadurch soll die Rohprotein- und Aminosäurenverdaulichkeit verbessert und der energetische Futterwert erhöht werden, um die Differenzen zum Sojaextraktionsschrot zu verringern. In Kanada existieren inzwischen gelbschalige Experimentalsorten (Sommerraps) mit reduziertem Schalenanteil. Sie enthalten im Vergleich zu den konventionellen schwarzschaligen Sorten weniger Faser und Oligosaccharide, aber mehr Rohprotein und Aminosäuren (Tabelle 4). Erste Untersuchungen weisen auch auf eine bessere Aminosäurenverdaulichkeit und einen höheren AME_N -Gehalt hin (Slominski et al., 2011). Diese Ergebnisse erfordern aber zur Bestätigung weitere Experimente.

Neue Ziele in der Rapsqualitätszüchtung (u.a. mittels gentechnischer Methoden) sind die Reduzierung weiterer Antinutritiva, z.B. phenolische Substanzen (Sinapin), Tannine und Phytinsäure. Außerdem werden die Arbeiten zur Glucosinolatreduzierung fortgesetzt (13th International Rapeseed Congress Praha, Czech Republic, 2011).

Tabelle 3: Ergebnisse mit Rapsextraktionsschrot (RES) von verarbeiteter GLS-armer Rapssaat in der Fütterung von Mastputen und Legehennen

Literaturquelle	Geflügelart	RES-Mischungsanteil % im Alleinfutter	GSL-Gehalt $\mu\text{mol/g RES}$ (88 % TM)	Bewertung
Mikulski et al. (2012)	Mastputen (männlich)	0/6/12/18	4,4	Mast- und Schlachtleistungsparameter durch RES kaum beeinflusst, Auftreten von Fußballenschäden nicht verstärkt
Campbell et al. (1999)	Weiße Legehennen	0/10/20	15	antinutritive Effekte bei 20% RES
		0/10/20	1,8	gleiche Leistungen in allen Gruppen, Organfunktionen durch RES nicht verändert
Rodehutschord et al. (2012)	Braune Legehennen	0/5/10/15	6	keine neg. RES-Wirkungen auf Leistungs- und Eizitätsparameter

Tabelle 4: Zusammensetzung¹ von Extraktionsschrot aus schwarz- und gelbschaliger Rapssaat (Slominski et al., 2007)

Saattyp	Rohprotein	Nahrungsfaser	Lignin und Polyphenole	Oligosaccharide
Schwarz	479	324	98	36
Gelb	486	266	47	21

¹ g/kg fettfreie TM

Nutzen technischer Behandlungen

Zur Verminderung des Fasergehaltes in Rapskuchen und Rapsextraktionsschrot wurden auch verschiedene technische Lösungen entwickelt. Hierzu zählt das **Schälen der Körner** vor der Verarbeitung (Kracht et al., 1998). Dadurch verändern sich positiv Nährstoffzusammensetzung und energetischer Futterwert (Tabelle 5). Der Fasergehalt nimmt ab, besonders der Anteil an Lignin (Reduzierung um 50%); der Gehalt an Rohprotein, Aminosäuren und weiteren Nährstoffen erhöht sich. Der Anstieg des AME_N-Gehaltes ist insbesondere abhängig vom Ausmaß der Rohfaserreduzierung durch den Schälprozess und vom Tieralter (Tabelle 6).

Tabelle 5: Vergleich der Inhaltsstoffe (g/kg Trockensubstanz) von Rapsextraktionsschroten aus nicht geschälter (ns) und geschälter (s) jeweils sortenidentischer Rapssaat

Autoren		Rohasche	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	NDF	Lignin	Lysin
Kracht et al. (2004)	ns	77	396	21	117	268	88	19
	s	82	424	21	72	193	44	22
Huang et al. (2007)	ns	79	386	14	118	- ¹	-	13
	s	78	468	9,5	56	-	-	21

¹nicht bestimmt

Tabelle 6: Einfluss der Rapssaatschälung auf den energetischen Futterwert von Rapsextraktionsschrot und Rapskuchen (Jeroch et al., 2001)

Rapsfuttermittel	Tiermaterial	Von nicht geschälter Saat		Von geschälter Saat		AME _N -Anstieg durch Schälern (%)
		Rohfaser g/kg TM	AME _N MJ/kg TM	Rohfaser g/kg TM	AME _N MJ/kg TM	
Rapsextraktionsschrot	Broiler	117	6,94	72	8,27	19
	Legehennen	117	8,08	72	9,91	23
Rapskuchen	Broiler	102	11,42	61	13,05	14

Das Abtrennen der faserreichen Schale vor der Ölgewinnung verbessert außerdem nach Untersuchungen mit wachsenden Schweinen und Broilerküken deutlich die AS-Verdaulichkeit bei den anfallenden Nebenprodukten (Kracht et al., 2004; Zuprizal et al., 1992). Die an Broilerküken erzielten Ergebnisse zeigt Tabelle 7. Die Verdaulichkeitswerte von Rapsextraktionsschrot aus geschälter Saat unterscheiden sich nur wenig oder nicht von den Sojaextraktionsschrot Daten.

Tabelle 7: Einfluss der Rapskörnerschälung auf die Aminosäurenverdaulichkeit (%) von Rapsextraktionsschrot bei Broilerküken (Zuprizal et al., 1992)

Aminosäure	Rapsextraktionsschrot		Sojaextraktionsschrot
	von ungeschälter Saat	von geschälter Saat	
Lysin	76	82	84
Methionin	84	90	89
Cystin	76	80	80
Threonin	78	82	84

Weitere technische Behandlungen von gemahlener Rapssaat (hydrothermische Konditionierung, Mikronisieren, Infrarotbehandlung) und von Rapsextraktionsschrot (Expandieren, Extrudieren) verbessern nicht den energetischen Futterwert für Broiler (Rapssaat, Rapsextraktionsschrot) und Legehennen (Rapssaat). Jedoch war die Behandlung des Rapssamenschrotes mit **Heißluft (Jet sploding)** bei 125 °C erfolgreich (Dänicke et al., 1998a).

Eine **chemisch-hydrothermische Behandlung** von Rapssaat (Brettschneider, 2006) wirkte sich auf die Reduzierung des Glucosinolatgehaltes stärker aus als das Toasten des RES in den modernen Ölmöhlen. Diese Behandlung reduzierte den Glucosinolatgehalt der Rapssaat von 13,8 µmol/g auf 1,5 µmol/g (jeweils bei 91% TM). Zu diesem Ergebnis ist jedoch kritisch anzumerken, dass bei einem sehr hohen Anteil der expandierten Rapssaat im Hennenfutter dennoch negative Effekte auf den Schilddrüsenstoffwechsel von Legehennen ermittelt wurden (Jeroch et al., 2009), die mutmaßlich durch Abbauprodukte der Glucosinolate verursacht wurden.

Das für die Legehennenfütterung bedeutsame Sinapin (verantwortlich für sogenannte Fischeier bei braunschalige Eier legende Hennen mit fehlender oder nicht ausreichender Trimethylamin-Oxidase-Aktivität, als Taintern bezeichnet) wird durch eine Kombination von **chemischer** (mit 10%iger Natriumbicarbonat-Lösung) und **hydrothermischer Behandlung** (Expander) der Rapsfuttermittel weitgehend abgebaut (Jeroch et al., 1999). Die so behandelten Rapsfuttermittel können dadurch auch in Futterrezepturen für braunschalige Eier legende Hennenherkünften mit Taintern bis zu 7,5% eingesetzt werden. Inzwischen gibt es jedoch Braunlegerherkünften, die frei von Taintern sind, so dass die beschriebene Behandlung dann nicht erforderlich ist.

Das Potenzial von Enzymergänzungen

Aus der praktisch fehlenden Phytaseaktivität in den Rapskörnern und somit auch in den Nebenprodukten der Rapssaatverarbeitung resultiert eine niedrigere Verwertung des Gesamt-Phosphors mit seinem hohen Anteil an Phytin-Phosphor. Oloffs et al. (2000) ermittelten an Legehennen eine P-Verwertung von 28% für Extraktionsschrot und von 22% für Kuchen. Vergleichsweise betrug die P-Verwertung beim Phytase-reicheren Weizen 46–49%. Durch **Phytaseergänzung** wird die P-Verwertung nach Untersuchungen mit Broiler und Legehennen beachtlich verbessert (Tabelle 8) (Dänicke et al., 1998b). Deshalb sollte bei Futtermischungen mit Rapsprodukten eine Ergänzung mit einem Phytasepräparat erfolgen.

Tabelle 8: Einfluss von mikrobieller Phytase bei Rapsprodukten auf die Phosphorverwertung beim Hühnergeflügel (Dänicke et al., 1998b)

Tiermaterial	Rapsprodukt	Phytasezusatz	P-Verwertung (%)
Broilerküken	Extraktionsschrot	ohne	43
		plus	62
	Kuchen	ohne	35
		plus	52
Legehennen	Extraktionsschrot	ohne	6
		plus	32
	Kuchen	ohne	22
		plus	40

Der hohe Gehalt an Zellwandkohlenhydraten (Nicht-Stärke-Polysaccharide [NSP]) und das Vorkommen an ebenfalls unverdaulichen Oligosacchariden veranlasste zur Prüfung von Präparaten mit **NSP abbauenden Enzymen**. Die von verschiedenen Autorengruppen (u.a. Kocher et al., 2000, 2001; Slominski et al., 2003; Fang et al., 2007) durchgeführten Untersuchungen ergaben unterschiedliche Resultate, d.h. nicht immer positive Enzymeffekte. Die vorliegenden Ergebnisse reichen nicht aus, um bereits Enzymergänzungen zu Futtermischungen mit Rapsprodukten zu empfehlen. Ein wesentlicher Grund für nicht immer vorhandene oder nur geringe Enzymeffekte sind sicherlich die verwendeten Präparate, die bezüglich ihrer Enzymaktivitäten auf Getreide-NSP, jedoch nur bedingt auf die NSP in den Rapsprodukten ausgerichtet sind.

Schlussfolgerungen

Rapssaat und ihre Verarbeitungsnebenprodukte sind ein exzellentes Beispiel für Bedeutung und Nutzen futterwertverbessernde Maßnahmen in der Geflügelfütterung. Während vor 40 Jahren Rapsfuttermittel aus konventioneller Saat bereits bei geringen Mischungsanteilen zu Störungen des Schilddrüsenstoffwechsels und zu Leistungsminderungen führten, sind die Produkte aus der verbesserten Doppel- und Dreifachqualität bis zu Anteilen von 25% in Geflügelalleinfutter problemlos einsetzbar. Das derzeit noch dominierende Sojaextraktionsschrot in Geflügelrezepturen könnte durch Rapsfuttermittel weitgehend ersetzt werden.

Auch bei weiteren Futtermitteln wurden Futterwertverbesserungen durch Züchtungsmaßnahmen erreicht und sind durch verschiedene Behandlungsmethoden und Bearbeitungsverfahren (auch Futtermischungen) möglich (Jeroch et al., 2013).

Weitere Potenziale zur Futterwertverbesserung von Rohstoffen und Mischungen sind durchaus vorhanden. Aus derzeitiger Sicht zeichnen sich folgende Möglichkeiten ab:

- Reduzierung weiterer antinutritiver Inhaltsstoffe durch konventionelle und gentechnische Methoden in der Pflanzenzüchtung sowie durch neuartige Futterzusatzstoffe,
- Entwicklung einer neuen Generation von Phytasen mit deutlich höherer Wirksamkeit und Beständigkeit,
- Teilweise Nutzung der NSP-Fraktion in Futtermitteln als Energiequelle durch enzymatischen Aufschluss außerhalb und innerhalb des Verdauungstraktes. Dadurch werden weitere Nährstoffe freigesetzt und für das Geflügel nutzbar.

Literatur

- Brettschneider J.G. (2006): Influence of chemical and hydrothermal treated rapeseed on performance, egg quality and parameters of thyroid gland of layers. Ph.D thesis University of Warmia and Mazury, Olsztyn/Poland
- Campbell, L.D., Slominski, B.A., Falk, K.C., Wang, Y. (1999): Low glucosinolate canola in laying hen diets. Proc. 10th International Rapeseed Congress, Canberra/Australia (CD)
- Dänicke, S., Kracht, W., Jeroch, H., Zachmann, R., Heidenreich, E., Löwe, R. (1998a): Effect of different technical treatments of rapeseed on the feed value for broilers and laying hens. Arch. Anim. Nutr. 51, 53-62
- Dänicke, S., Jeroch, H., Kracht, W., Potkanski, A., Rutkowski, A. (1998b): P utilisation from rape seed meal and rape seed expeller by laying hens and broilers and its improvement by phytase supplementation. Agribiol. Res. 51, 127-141
- Deutscher Verband Tiernahrung (DVT) (2013): Manuskript Hühnerfütterung-Hintergrundinformationen
- Fang, Z., Peng, J., Liu, Z., Dai, J. (2007): Effects of enzyme addition on the nutritive value of broilers diets containing high proportions of hulled or dehulled Chinese double-low rapeseed meals. Proc. 12th International Rapeseed Congress Wuhan, China, Vol. V, 294-298
- Huang, F., Li, W., Huang, Q., Niu, Y., Wan, C. (2007): New process of dehulling-cold pressing-expansion for double-low rapeseed. Proc. 12th International Rapeseed Congress, Wuhan, China, Vol. V, 126-130
- Jeroch, H., Dänicke, S., Brettschneider, J.G., Schumann, W. (1999): Einsatz von behandelter Rapssaat bei braunen Legehennen. Die Bodenkultur 50, 45-55
- Jeroch, H., Kracht, W., Dänicke, S. (2001): Feeding value of rape products and its improvement for broilers and laying hens. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 103, 7-11
- Jeroch, H., Schöne, F., Jankowski, J. (2008) : Inhaltsstoffe von Rapsfuttermitteln und Futterwert für das Geflügel. Arch. Geflügelk. 72, 8-18
- Jeroch, H., Brettschneider, J.G., Dänicke, S., Jankowski, J., Kozłowski, K., Schöne, F. (2009): The effect of chemically and hydrothermally treated rapeseed on the performance and thyroid parameters of layers. Polish Journal of Veterinary Sciences. 12, 439-448
- Jeroch, H., Simon, Annette, Zentek, J. (2013): Geflügelernährung. Eugen Ulmer Verlag Stuttgart (im Druck)
- Kocher, A., Choct, M., Porter, M.D., Broz, J. (2000): Effects of enzyme addition to broiler diets containing high levels of canola or sunflower meal. Poultry Sci. 79, 1167-1774
- Kocher, A., Choct, M., Morrisroe, L., Broz, J. (2001): Effects of enzyme supplementation on the replacement value of canola meal for soyan meal in broiler diets. Aust. J. Agric. Res. 52, 447-452
- Kracht, W., Jeroch, H., Keller, T., Matzke, W., Dänicke, S., Kluge, H., Keller, K., Böttcher, W., Hennig, U., Schumann, W., Matthäus, B., Köhler, T., Deicke, H.D. (1998): Futterwert von Extraktionsschrot aus geschälter Rapssaat für Mastschweine, Ferkel, Broiler und Legehennen. UFOP-Schriften Nr. 10, 9-74
- Kracht, W., Dänicke, S., Kluge, H., Keller, K., Matzke, W., Hennig, U., Schumann, W. (2004): Effect of dehulling of rapeseed on feed value and nutrient digestibility of rape products in pigs. Arch. Anim. Nutr. 58, 389-404
- Mikulski, D., Jankowski, J., Zduńczyk, Z., Juskiwicz, J., Slominski, B.A. (2012): The effect of different dietary levels of rapeseed meal on growth performance, carcass traits, and meat quality in turkeys. Poultry Sc. 91, 215-223

Oloffs, Kerstin, Cossa, J., Jeroch, H. (2000): Phosphorus utilization from different vegetable feedstuffs by laying hens. Arch. Geflügelk. 64, 24-28

Rodehutscord, M., Seyfang, G., Grashorn, M. (2012): Einsatz von Rapsextraktionsschrot in der Fütterung von Legehennen. UFOP-Forschungsbericht

Slominski, B.A., Meng, X., Omogbenigun, O.F., Boros, D., Nyachoti, M.C, Campbell, L.D., Guenter, W., Jones, O. (2003): Recent advances in research on improving nutritive value of canola seed and meal by enzyme supplementation. Proc. 11th International Rapeseed Congress Copenhagen, Denmark, 1217-1221

Slominski, B.A., Meng, X., Jia, W., Nyachoti, M.C., Jones, O., Rakow, G. (2007): Chemical composition and nutritive value of yellow-seeded *Brassica napus* canola. Proc. 12th International Rapeseed Congress Wuhan, China, 253-255

Slominski, B.A. (2011): Chemical composition and nutritive value of low fiber yellow *B.napus* and *B. juncea* canola for poultry. Proc. 13th International Rapeseed Congress Praha, Czech Republic (CD)

Weber, M. (2010): Rapsextraktionsschrot in der Schweinefütterung: Qualität und Futterakzeptanz. Schweinezucht aktuell 36-2010, 35-37

Zuprizal, M., Labier, A., Chagneau, M. (1992): Effect of age and sex on true digestibility of amino acids of rapeseeds and soybean meals in growing broilers. Poultry Sci. 71, 1486-1492

Autorenanschrift

Prof. Dr. Dr.h.c. Heinz Jeroch
Department für Geflügelwissenschaften
Universität Warmia und Mazury in Olsztyn
Oczapowskiego 5; PL-10719 Olsztyn
E-Mail: heinzjeroch@hotmail.com

Potential neuer Prozesse der Lebensmitteltechnologie für Futtermittel

Dietrich Knorr

Lebensmittelbiotechnologie und –prozesstechnik, TU Berlin, DE

Die Entwicklung neuer, produkt- und ressourcenschonender Technologien in der Lebensmittelverarbeitung wurde vorrangig durch die Konsumentenbedürfnisse nach minimaler Verarbeitung sowie Frische, erhöhte Sicherheit und Gesundheit der Produkte bewirkt. Zusätzlich kamen im letzten Jahrzehnt noch der Anspruch auf hohe physiko-chemische Qualität, Sensorik und Nachhaltigkeit hinzu.

Diese entstehenden, schonenden Verfahren sind vorrangig "nicht-thermisch" was bedeutet, dass traditionelle thermische Prozesse mit neuen Prozessen wie hydrostatisches Hochdruckverfahren, elektrischen Hochspannungsimpulsen, atmosphärischem Plasma oder Ultraschall ergänzt werden. Diese Verfahren zeichnen sich durch Einsatzmöglichkeiten zur Konservierung als auch zur Modifizierung von Lebensmitteln und Futtermitteln sowie deren Bestandteilen aus.

Es zeigt sich, dass zwischen den Zielen und Bedürfnissen bei der Verarbeitung von Lebensmitteln viele Parallelen zu Futtermitteln existieren und dass neue Technologien das Potential der Erschließung neuer Rohstoffquellen ermöglicht.

Der Beitrag gliedert sich in eine Beschreibung der wichtigsten Herausforderungen für die Verarbeitung von Lebensmitteln und eine eingehende Darstellung der genannten neuen Technologien, wobei versucht wird Bezug zu Futtermitteln insbesondere im Bereich Produktsicherheit und -modifizierung herzustellen.

Es werden Möglichkeiten und Herausforderungen bei den neuen Technologien aufgezeigt und diskutiert welches Potential für Futtermittel besteht. Weiters wird auf die Abfall- und Nebenproduktproblematik bei der Gewinnung von Lebens- und Futtermitteln eingegangen und Prozess- und Produktentwicklungskonzepte vorgestellt.

Abschließend wird auf die Notwendigkeit der Integration der Gewinnungs- und Verarbeitungskette Futtermittel – Tier – Lebensmittel – Mensch hingewiesen.

Autorenanschrift

Prof. Dr. Dietrich Knorr
Technische Universität Berlin
Fakultät III
Institut für Lebensmitteltechnologie und -chemie
Fachgebiet Lebensmittelbiotechnologie und -prozesstechnik Technische Universität Berlin
Koenigin-Luise-Str. 22, D-14195 Berlin
E-Mail: dietrich.knorr@tu-berlin.de

Neue Ansätze zur Messung und Stabilisierung des Vormagen-pH-Wertes beim Rind

Johann Gasteiner

Institut für Artgemäße Tierhaltung und Tiergesundheit des Lehr- und Forschungszentrums Raumberg-Gumpenstein, Irnding, AT

Einleitung

Die Untersuchung des Pansensaftes ist das aussagefähigste Kriterium zur Beurteilung des Milieus im Vormagensystem von Wiederkäuern. Der pH-Wert stellt dabei die wichtigste Größe zur Beurteilung der Kohlenhydratversorgung über die Ration dar und die Pansen-pH-Wertbestimmung wird auch als die definitive Untersuchungsmethode zur Erkennung einer Pansenazidose beschrieben (Krause u. Oetzel, 2006; Steingass u. Zebeli, 2008).

Die negativen tiergesundheitlichen Auswirkungen von SARA sind vielfältig, betreffen verschiedene Organsysteme und Gewebe des Körpers und sie stellen einen zentralen, die Produktion mindernden Faktor der Milchviehhaltung dar (Dirksen et al., 1990; Nordlund et al., 1995; Ossent et al., 1997; Gantke et al., 1998; Owens et al., 1998; Cooper et al., 1999; Lischer u. Ossent, 2001; Kleen et al. 2003; Nordlund, 2003; Enemark et al. 2007).

Sowohl für wissenschaftliche Untersuchungen als auch für diagnostische Routineuntersuchungen unter Praxisbedingungen standen bislang die orale Pansensaftentnahme und die Rumenozentese zur Verfügung (Garrett et al. 1999; Duffield et al., 2004). Die Ergebnisse aus diesen Untersuchungen stellen Einzelergebnisse („spot sampling“) dar, wobei die Methode der Probenahme das Ergebnis signifikant beeinflussen kann (Dirksen, 1990; Seemann und Spohr, 2007, Strabel et al., 2007).

Strabel et al. (2007) ermittelten, dass per Schlundsonde entnommene Proben durchschnittlich 0,5 pH-Einheiten (0,2 bis 1,9 pH-Einheiten) höhere Werte zeigten als solche, die per Rumenozentese entnommen wurden. Zur Entnahme von Pansensaft stehen verschiedene Bauarten von Schlundsonden zur Verfügung (Dirksen, 1975; Seemann und Spohr, 2007), welche unterschiedlich stark mit Speichel angereicherte Pansensaftproben liefern.

Eine *in vivo* Messung des Pansen-pH-Wertes wurde erstmals von Smith (1941) beschrieben und von einer kontinuierlichen Dokumentation solcher Messungen berichteten Johnson und Sutton (1968). Dado und Allen (1993) vernetzten die erhobenen Daten mit weiteren Ergebnissen aus Erhebungen der Futter- und Wasseraufnahme sowie der Kauaktivität, um die Zeitdauer und die konkreten Ursachen azidotischer Zustände im Vormagensystem von Rindern exakter definieren zu können. Eine kontinuierliche, intraruminale Messung des Pansen-pH-Wertes hat gegenüber dem „spot sampling“ den entscheidenden Vorteil, dass Fluktuationen des Pansen-pH-Wertes erkannt und auf einer Zeitachse dargestellt werden können. Solche Techniken zur Messung des Pansen-pH-Wertes wurden in einer Reihe von wissenschaftlichen Untersuchungen angewendet (Dado u. Allen, 1993; Keunen et al., 2002; Rustomo et al., 2006; Alzahal et al., 2007). Diese Techniken haben gemeinsam, dass bei dem zu untersuchenden Tier eine Pansenfistel anzulegen ist und dass die erhobenen Daten in einer Speichereinheit im Pansen registriert werden. Um zu den erhobenen Daten zu gelangen, musste entweder die Speichereinheit wieder über die Pansenfistel aus dem Pansen entfernt werden (Dado u. Allen, 1993; Keunen et al., 2002; Nocek et al., 2002; Penner et al., 2007; Rustomo et al., 2006) oder die Daten wurden über eine Kabelverbindung an eine außerhalb des Pansens liegende, am Tier befestigte Einheit übertragen (Alzahal et al., 2007).

Am Lfz Raumberg-Gumpenstein wurden in den letzten Jahren umfangreiche Versuche auf dem Gebiet der kontinuierlichen intraruminalen pH-Messung mit Sensoren bei Rindern durchgeführt und in Zusammenarbeit mit der Firma smaXtec[®] wurde zu dieser Fragestellung eine technische Lösung bis zur Praxisreife entwickelt. Gasteiner et al. (2009) beschrieben erstmals dieses System zur kontinuierlichen Messung des pH-Wertes und der Temperatur im Netzmagen mit Funkübertragung. Das Mess-System, aber auch die Messstelle, der Boden des Retikulums, wurden von Schneider et.al. (2010) validiert und bereits bei mehreren Versuchen erfolgreich eingesetzt (Gasteiner et al. 2009; 2012 a; b).

Im folgenden Beitrag sollen die Erfahrungen mit der Technik und ausgewählte, auch für die Praxis relevante Ergebnisse und Interpretationen aus Fütterungs-Exaktversuchen des Lfz sowie aus 4 niederländischen Milchviehbetrieben vorgestellt werden (Gasteiner et al. 2012a; Schieder 2012).

Material und Methoden

Der Pansensensor – eine pH- und Temperaturmeseinheit mit Funkeinrichtung im Vormagensystem

Zur kontinuierlichen Messung des pH-Wertes im Vormagensystem wurden bei Rindern intraruminale Mess-Sensoren (smaXtec[®]-GmbH Graz) eingesetzt. Die ermittelten Werte wurden in der pH-Sonde abgespeichert und kabellos über Funk ausgelesen. Die Messintervalle (von Sekunden bis Stunden) können variabel eingestellt werden. Das Messintervall in den Untersuchungen betrug immer jeweils 600 Sekunden, was 144 Einzelmessungen pro Tag entspricht. Die Sensoren können aufgrund ihrer Abmessungen (Länge 120 mm, Durchmesser 36 mm, Gewicht 208 g) und ihrer Bolusform per os eingegeben werden. Das bruchsihere Kunststoffgehäuse der Messeinheit besteht aus Pansensaft-resistentem Kunststoff (DIg 2010). Das Sensorsystem wird durch einen Mikroprozessor gesteuert. Die Daten werden mittels A/D-Konverter aufgezeichnet und danach vom Mikroprozessor weiterverarbeitet, wobei die gemessenen Daten in einem nicht flüchtigen Speicher des Sensors abgelegt werden. Diese Messergebnisse können drahtlos über Funkwellen (433 MHz) an ein externes Empfangsgerät übertragen werden. Die Empfangseinheit ist über Internet mit einem Server verbunden, wo die Ergebnisse über ein eigens entwickeltes EDV-Programm ausgelesen, graphisch dargestellt und interpretiert werden können (Gasteiner et al., 2008; 2009; 2012a; b). Der Anwender hat mit einem Zugangscode via Internet jederzeit Zugriff auf die aktuellen Daten.

Die Datenübertragung aus dem Pansen ist im Umkreis von zumindest 20 Metern möglich. Antennen zum Empfang der Signale wurden vorzugsweise im Melkstandbereich installiert, wodurch ein zweimaliges Auslesen der Daten je Tag während der Melkzeiten gewährleistet war.

Anwendungsbeispiel 1: Tierindividuelle Vormagen-pH-Messergebnisse und deren Interpretation (Gasteiner et al., 2012)

Ziel dieser Untersuchungen war es, die Anwendbarkeit des Systems zur kontinuierlichen pH-Wertmessung unter Praxisbedingungen sowie die technische Zuverlässigkeit bei nicht pansenfistulierten Milchkühen zu prüfen. Besonderes Augenmerk wurde auf die Zusammenhänge zwischen Rations- und Fütterungsbedingungen und dem pH-Wert hinsichtlich der Interpretation der Ergebnisse auf tierindividueller Basis gelegt. Dazu wurden 20 Milchkühe bei Laufstallhaltung mit dem Sensor-System bestückt und ad lib. mit Grundfutter (Grassilage, Maissilage, Heu) versorgt, wobei die Futterraufnahmen durch zweimal tägliche Ein- und Rückwaage erhoben wurden („Calan-Gates“). Kraftfutter wurde leistungsgerecht in Abhängigkeit von der Milchleistung über eine Kraftfutterstation zu gefüttert.

Anwendungsbeispiel 2: Vormagen-pH-Messergebnisse von Hochleistungskühen auf Herdenbasis und deren Interpretation (Gasteiner et al., 2012)

Ziel dieses Versuches war der praktische Einsatz des Systems zur kontinuierlichen pH-Wertmessung auf 4 intensiven Milchviehbetrieben (AGR bzw. TMR-Fütterung), wobei besonderes Augenmerk auf die

Dokumentation von Leistungsdaten und die Rationsbedingungen gelegt wurde. Die Betriebe wurden über das interaktive Analyseprogramm Agroscoop® betreut, wodurch gewährleistet war, dass die Angaben zu den Produktionsdaten (Leistungen und Rationszusammensetzungen) dieser Betriebe zur Verfügung standen. Die Sensoren wurden etwa 1 Woche vor dem berechneten Abkalbetermin eingegeben und die Messdaten wurden bis zum Tag 80 post partum ausgewertet.

Anwendungsbeispiel 3: Auswirkungen von Amylase-hemmender Lignozellulose auf das Verhalten des pH-Wertes in den Vormägen (Schieder 2012)

Zur Überprüfung der Frage, inwieweit Amylase-hemmende Lignozellulose (OptiCell®) auf das Verhalten des Vormagen-pH-Wertes einen Einfluss hat, wurde am Lfz Raumberg-Gumpenstein ein Fütterungs-Exaktversuch durchgeführt. Dazu wurden 6 pansenfistulierte Rinder in Laufstallhaltung (3x3 lateinisches Quadrat) mit dem Sensor-System bestückt. Die Ration bestand aus 50 % Maissilage, 40 % Kraftfutter und 10 % Heu. Neben der Kontrollgruppe (0 g/d Lignozellulose) wurden 2 Versuchsgruppen definiert (30 g/d bzw. 60 g/d Lignozellulose). Eine Versuchsperiode dauerte 2 Wochen, der Anpassungs-Intervall zwischen den Versuchsperioden dauerte jeweils 1 Woche. Die individuelle Futteraufnahme wurde zweimal täglich erhoben, die Nährstoffgehalte der Rationskomponenten wurden wöchentlich bestimmt.

Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungen der Anwendungsbeispiele 1 und 2 wurden mittels General Linear Model (GLM Statgraphics Centurion) durchgeführt. Die als Ergebnis angeführten Werte wurden nach der Methode der kleinsten Quadrate (Method of Least Squares) ermittelt und stellen somit den Kleinstquadrat-Mittelwert (Least Square Mean) dar. Als hoch signifikant *** wurden Ergebnisse bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,001$ angegeben.

Die statistische Auswertung zum Einfluss von Amylase-hemmender Lignozellulose auf den pH-Wert im den Vormagensystem (Anwendungsbeispiel 3) wurde mit der Analysesoftware SAS 9.2 durchgeführt.

Ergebnisse

Anwendungsbeispiel 1: Tierindividuelle Messergebnisse und deren Interpretation

Die tagesdynamischen Schwankungen des pH-Wertes korrelieren eng mit den Zeitpunkten der Fütterung bzw. der Futteraufnahme (Abbildung 1). Anstiege des pH-Wertes weisen auf Phasen der Rumination bzw. der Ruhe (keine Futteraufnahme) hin, während pH-Wert-Absenkungen unmittelbar im Anschluss an die Futteraufnahme zu verzeichnen sind. Dies ist durch die einsetzende Säureproduktion aus dem neu aufgenommenen Futtermittel im Vormagenbereich begründet.

Neben den typischen tagesdynamischen Schwankungen des pH-Wertes, die vom Fütterungsmanagement und der individuellen Futteraufnahme definiert werden, wird in Abbildung 1 der Unterschied des pH-Niveaus bei unterschiedlicher Rationszusammensetzung deutlich. Während die pH-Verlaufskurve „hohes Niveau“ von einer Kuh, stammte, die mit einer Struktur-betonteren Ration gefüttert wurde, wurde die Kuh mit der pH-Verlaufskurve „tiefes Niveau“ mit einer Ration mit höherer Energiedichte und geringerer Strukturwirksamkeit versorgt.

Die beiden pH-Verlaufskurven in Abbildung 2 stammen von 2 Kühen in der Startphase der Laktation (jeweils ab dem 7. Tag der Laktation). Bei kontinuierlicher täglicher Kraftfuttersteigerung um 0,25 kg (ausgehend von einer anfänglichen KF-Gabe von 1,5 kg) konnte die pH-Verlaufskurve „langsamer Abfall“ festgestellt werden. Bei rascher Steigerung der Kraftfuttergaben (Steigerung um 1 kg KF/d) kam es zu einer hoch signifikanten pH-Absenkung ab dem 6. Mess-Tag mit Tiefstwerten bis pH 5,07 sowie zu Amplitudenschwankungen von mehr als 2 pH-Einheiten.

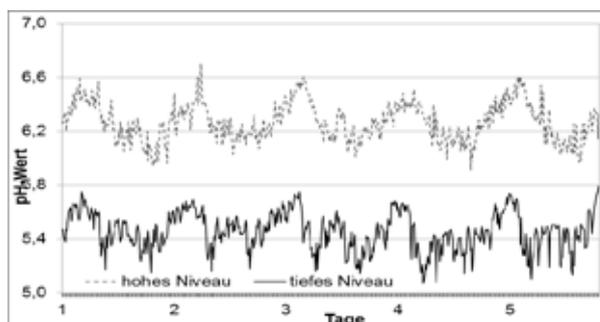


Abbildung 1: Vergleichende Darstellung des pH-Verlaufes bei guter sowie bei geringer Versorgung mit NDF bzw. optimaler sowie zu hoher Versorgung an NFC (Gasteiner et al., 2012)

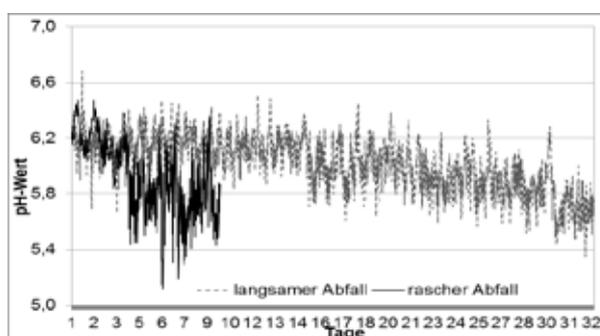


Abbildung 2: Vergleichende Darstellung des pH-Verlaufes bei langsamer Anpassung an steigende Kraftfuttergaben von 250 g/d über 32 Tage („langsamer Abfall“) und rascher Kraftfuttersteigerung um 1kg/d („rascher Abfall“), (Gasteiner et al., 2012)

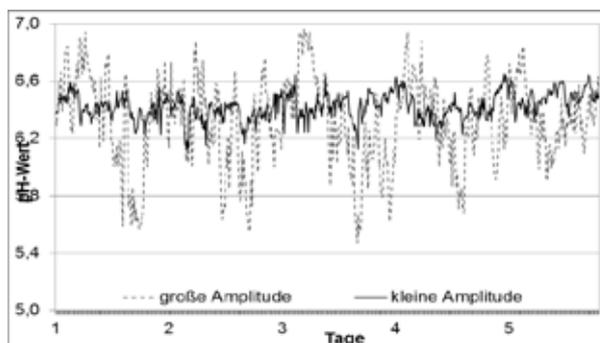


Abbildung 3: Vergleichende Darstellung des pH-Verlaufes bei großer und kleiner Amplitude (Gasteiner et al., 2012)

Die großen Schwankungen des pH-Wertes der Verlaufskurve „große Amplitude“ in Abbildung 3 stammen von einer Kuh, welche „mehrphasig“ gefüttert wurde. Im Rahmen der Morgenfütterung wurde 1 kg Heu gefüttert, danach Grassilage ad lib. Hierauf folgte die Gabe von 4 kg Kraftfutter, gefolgt von der Gabe der Maissilage ad lib. Die Abendfütterung lief nach demselben Schema ab. Die pH-Verlaufskurve „kleine Amplitude“ stammt von einer Kuh, welche ad lib. mit einer TMR versorgt wurde, wobei die TMR in ihrer qualitativen und prozentuellen Zusammensetzung der Ration „mehrphasig“ entsprach.

Anwendungsbeispiel 2: pH-Wert-Messergebnisse von Hochleistungskühen auf Herdenbasis und deren Interpretation

Der zeitliche Verlauf des Vormagen-pH-Wertes (Tagesmittelwerte von Hochleistungs-Milchkühen aus 4 Betrieben) zeigte eine enge Korrelation zum Laktationstag (Abbildung 4). In der Woche vor der Abkalbung kam es, ausgehend von pH 6,6 zu einem Anstieg des pH-Wertes mit einem höheren Niveau (pH 6,8) für 7 Tage (rund um dem Abkalbetag), was als Zeichen der herabgesetzten Futterraufnahme um den Abkalbung angesehen werden kann („off feed syndrome“). Danach folgte eine Absenkung auf das Niveau pH 6,6. Dieses mittlere Niveau blieb bis zum Tag 20-25 bestehen um sich dann um den 80. Laktationstag auf das Niveau 6,2 bzw. 6,0 abzusenken, was durch die gesteigerte Energiekonzentration der Ration bei gleichzeitigem Rückgang des NDF-Gehaltes sowie durch die ansteigende Futterraufnahme der Kühe erklärt wird.

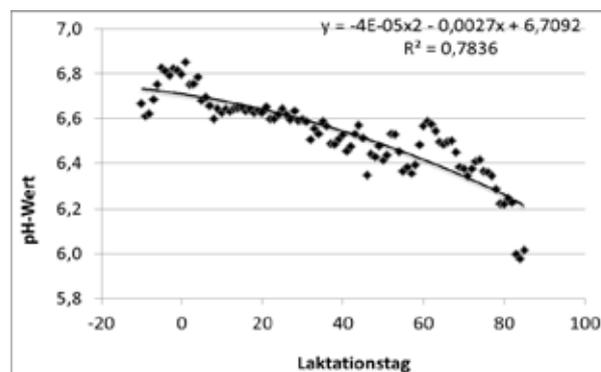


Abbildung 4: Zeitlicher Verlauf der pH-Tagesmittelwerte von 16 Milchkühen aus den 4 Hochleistungs-Betrieben vom 7. d a.p. bis 80. d p.p. (Gasteiner et al., 2012)

Anwendungsbeispiel 3: Auswirkungen von Amylase-hemmender Lignozellulose auf das Verhalten des pH-Wertes in den Vormägen von Rindern

Der Einfluss der Verfütterung einer Lignozellulose (OptiCell®) auf den Verlauf des Vormagen-pH-Wertes wurde im Versuchsdesign eines lateinischen Quadrats untersucht (0 g; 30 g und 60 g/d). Im Gruppenmittel konnte demnach keine signifikante Wirkung für die Lignozellulose gefunden werden. Bei Betrachtung der tierindividuellen Ergebnisse konnte jedoch eine Wirkung der Lignozellulose unter bestimmten Bedingungen nachgewiesen werden.

Zusammenfassung und Diskussion

Zur kontinuierlichen Messung des pH-Wertes und der Temperatur im Vormagenbereich wurde am Lehr- und Forschungszentrum (Lfz) Raumberg-Gumpenstein in Zusammenarbeit mit der Fa. smaXtec animal care GmbH., (Graz), eine Messeinheit („Pansen-Sensor“) entwickelt, welche in Bolusform permanent am Haubenboden liegt und diese Messungen automatisch durchführt

In der vorliegenden Arbeit werden 3 Anwendungsbeispiele des Systems beschrieben.

In Anwendungsbeispiel 1 wurden 20 Milchkühe mit dem Sensor-System ausgestattet. Die mittlere Laufzeit der Sensoren betrug hier 72 Tage. Es wurden pH-Messergebnisse dargestellt, die eine Interpretation des pH-Niveaus, der Anpassungszeit an sich ändernde Rationsbedingungen und der Größe der pH-Amplituden zulassen. Während das pH-Niveau vorwiegend durch die Zusammensetzung der Ration (Verhältnis NDF : NFC) und die individuelle Futterraufnahme bestimmt wird, werden die pH-Wert-Amplituden bzw. deren Größe weitgehend durch das Futterangebot, die Futterraufnahme und letztlich stark vom Fütterungsmanagement beeinflusst.

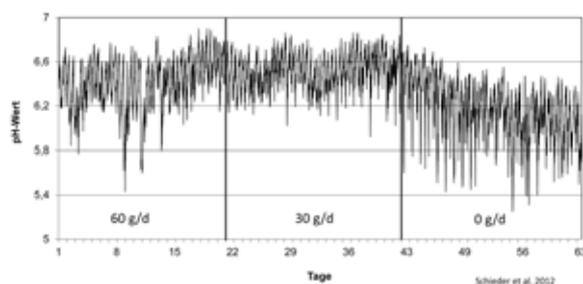


Abbildung 5: Zeitlicher Verlauf des Vormagen-pH-Wertes bei Einsatz einer Amylase-hemmenden Lignozellulose (60 g/d, 30 g/d, 0 g/d) für jeweils 21 Tage bei einem Einzeltier (Schieder et al. 2012)

In Anwendungsbeispiel 2 wurden 16 hochleistende Milchkühe aus 4 Betrieben 1 Woche vor der Abkalbung mit einem Sensor ausgestattet und der Vormagen-pH-Wert bis zum 80. d p.p. gemessen. Der zeitliche Verlauf des Vormagen-pH-Wertes zeigte hier eine enge Korrelation zum Laktationstag sowie zur Zusammensetzung der Ration.

In Anwendungsbeispiel 3 wurde der Einfluss der Verfütterung einer Lignozellulose (OptiCell®) im Versuchsdesign eines lateinischen Quadrats auf den Verlauf des Vormagen-pH-Wertes untersucht. Es stellte sich heraus, dass das Niveau des Vormagen-pH-Wertes trotz gleicher Rationsbedingungen tierindividuell große Unterschiede zeigte, die durch die stark unterschiedlichen Futteraufnahmen der Versuchstiere erklärt werden konnten. Rinder mit geringerer Futteraufnahme zeigten ein höheres pH-Niveau im Vormagensystem als Tiere mit einer höheren Futteraufnahme. Im Gruppenmittel konnte demzufolge keine signifikante Wirkung für die Lignozellulose gefunden werden, da die tägliche Futteraufnahme durchschnittlich nur 12 kg TM/Tier betrug und keine Übersäuerung ausgelöst wurde. Abbildung 5 zeigt den zeitlichen Verlauf des Vormagen-pH-Wertes einer Kuh mit höherer Futteraufnahme als im Gruppenmittel. Bei diesem Tier sank der Vormagen-pH-Wert in den azidotischen Bereich (Abbildung 3; Tage 42-63). Durch den Einsatz von 30 g/d Lignozellulose konnte bei diesem Tier eine deutliche Stabilisierung des Vormagen-pH-Wertes gefunden werden.

Der Einsatz von Vormagen-Sensoren ist sowohl unter Versuchsbedingungen als auch unter praktischen Bedingungen möglich. Die Messergebnisse dienen zur Überwachung der Tiergesundheit und zur Überprüfung, aber auch zur Steuerung der Rationszusammensetzung und des Fütterungsmanagements. Fütterungsfehler können über das pH-Niveau, pH-Schwankungen sowie durch pH-Anstiege bzw. -Absenkungen dargestellt werden. Im Rahmen von Fütterungsversuchen kann die Wirkung von Futtermitteln und Futtermittel-Zusatzstoffen auf den Verlauf des Vormagen-pH-Wertes bestimmt werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Versuche wurden anhand einer technischen Innovation gewonnen, welche sowohl im wissenschaftlichen Bereich als auch unter Praxisbedingungen neue Möglichkeiten zum besseren Verständnis der Vormagenphysiologie und Vormagenpathologie eröffnet.

Literatur

beim Autor

Autorenanschrift

Dr. Johann Gasteiner (ECBHM)
 Institut für Artgemäße Tierhaltung und Tiergesundheit; Lehr- und Forschungszentrum Raumberg-Gumpenstein
 A-8952 Irdning
 Tel.: 0043-368222451-360
 E-Mail: johann.gasteiner@raumberg-gumpenstein.at

***In vitro*-Systeme als Modell für die Pansenphysiologie und Methoden zur Charakterisierung der Pansenmikroorganismen**

Johanna O. Zeitz^{1,2}

¹ Institut für Agrarwissenschaften, ETH Zürich, CH

² Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie, Justus-Liebig-Universität Gießen, DE

Einleitung

Der Pansen des Wiederkäuers bietet Mikroorganismen ein anaerobes (Redoxpotential -200 bis -300mV), temperiertes (ca. 39°C) Habitat, in dem komplexe Kohlenhydrate i. d. R. den Grossteil der verfügbaren Substrate stellen. Puffersubstanzen im Speichel ermöglichen einen relativen stabilen pH-Wert zwischen 6 und 7. Absorption und Abfluss von Endprodukten der mikrobiellen Fermentation verhindern deren Anreicherung. Die Pansenmikroorganismen, v. a. fermentative Bakterien ($\sim 10^{10-11}$), Pilze (Sporen: $\sim 10^5$), Protozoen ($\sim 10^6$), methanogene Archaea ($\sim 10^7$), acetogene Bakterien ($< 10^5$) und Viren (Phagen; $\sim 10^{11}$) sorgen in ihrer Gesamtheit für Fermentation, Ab- und Umbau der Nährstoffe sowie für die Entsorgung des entstehenden, die Fermentation hemmenden Wasserstoffs (H_2). Sie helfen so, die Energie- und Protein- und Vitaminversorgung des Wiederkäuers sicherzustellen.

Durch die enorme Vielzahl der Arten von Mikroorganismen im Pansen sowie die mannigfaltigen Wechselwirkungen zwischen Arten und Gruppen von Mikroorganismen ist sowohl die Charakterisierung der Population (Präsenz, Aktivität) sowie die *in vitro* Simulation der (Pansen-) Verdauung und die Beschreibung der im Pansen ablaufenden Vorgänge eine Herausforderung. Mikroorganismen werden von den herrschenden Bedingungen (z.B. pH, Redoxpotential, Osmolarität) sowie von den zur Verfügung stehenden Nähr- und Wirkstoffen (v. a. Art und Menge des Futters und etwaiger pharmakologisch wirksamer Substanzen, Frequenz der Fütterung) beeinflusst. Allerdings determinieren auch wirtsspezifische Faktoren die Mikroorganismengemeinschaft im Verdauungstrakt stark – die Mechanismen dahinter sind allerdings noch weitgehend unbekannt (Wallace 2008).

Das Zusammenspiel von Mikroorganismengemeinschaft und wirtsspezifischen Faktoren sowie die Auswirkungen von Futtermitteln und Futterzusatzstoffen auf den tierischen Organismus muss *in vivo* untersucht werden. Hier bieten neue molekularbiologischen Methoden Chancen, Diversität und metabolische Aktivität der Mikroorganismengemeinschaft umfassender und schneller zu untersuchen, als es mit klassischen Methoden bisher möglich war. Die Kombination mikrobiologischer Untersuchungen mit Analysen etwa des Pansenepithels verspricht ebenso interessante Einsichten in das Zusammenspiel von Wirt und Mikroorganismen. Beispielhaft sei hier genannt, dass die Fütterung von zuckerreichem Heu im Pansen von Milchkühen die Zellzahlen laktat-produzierender und laktat-verwertender Bakterien ansteigen ließ, während die mRNA Expression verschiedener Transporter im Pansenepithel und die Konzentration von Akutphasen-Proteinen im Blut unverändert blieb (Ineichen 2013), ein Hinweis darauf, dass in diesem Fall die Pansenbakterien entscheidend zur Regulation der Azidität im Pansen beigetragen haben.

Im Gegensatz zu *in vivo* Untersuchungen dienen *in vitro* Modelle vornehmlich dazu, den mikrobiellen Stoffwechsel (mikrobielle Physiologie) im Detail und unter kontrollierten Bedingungen zu untersuchen. Wirt-Mikroorganismus-Interaktionen werden so ausgeschlossen und die Zahl der *in vivo* auftretenden Einflussfaktoren auf das mikrobielle Ökosystem kann reduziert werden bzw. einzelne Faktoren können konstant gehalten werden. Dies erlaubt die Reduktion auf eine messbare und interpretierbare Anzahl

an Faktoren. Dies ist eine unabdingbare Voraussetzung, um ein System wie den Pansen zu verstehen, was wiederum die Grundlage dafür ist, das System erfolgreich in eine gewünschte Richtung lenken zu können. Beispielhaft sei hier genannt, dass in Rusitec-Versuchen herausgearbeitet wurde, dass der vorherrschende pH-Wert determiniert, ob Zuckerzulagen methanhemmend oder methansteigernd wirken (Hindrichsen und Kreuzer 2009) und in Batch-Kulturen, dass bei pH-Werten <5.5 nicht nur Methanogene die Methanbildung fast komplett stoppen, sondern dass auch der Abbau von Cellulose zum Erliegen kommt (Hu et al. 2005). Zudem können *in vitro* auch Substanzen, deren Wirkungen im Tier noch unbekannt sind, sogar in hohen Dosierungen auf ihre Auswirkungen auf die Verdauung getestet werden. Um den skizzierten Anforderungen gerecht zu werden, sollten *in vitro* Systeme die Lebensbedingungen der Mikroorganismen allerdings möglichst realistisch abbilden und eine ähnliche und ähnlich komplexe Mikroorganismengemeinschaft ermöglichen.

***In vitro*-Systeme**

Der Pansenphysiologie stehen für Untersuchungen des mikrobiellen Stoffwechsels und mikrobieller Interaktionen eine Vielzahl von *in vitro*-Systemen zur Verfügung. Diese können einerseits in statische/geschlossene (‘batch’) und kontinuierliche/offene Systeme eingeteilt werden. Es kann auch nach der Art des mikrobiellen Inokulums, d.h. nach der Verwendung von Pansensaft respektive Rein-kulturen, unterschieden werden. Neben der Pansenfermentation kann auch die Verdauung in Dünndarm (Casamiglia und Stern 1995) und Dickdarm (Varadyova et al. 2000) simuliert werden. Ebenso existieren Methoden, die sich teilweise (Tilley und Terry 1963) oder ganz (Cellulase-Methode; De Boever et al. 1986) auf den Einsatz von Enzymen stützen.

Schon Mitte des vergangenen Jahrhunderts wurden Anforderungen an geeignete *in vitro*-Systeme definiert. In der Beurteilung von *in vitro*-Systemen wurde entweder mehr Gewicht auf die einzustellenden Bedingungen (Ewart 1974) oder auf die zu erreichenden Ergebnisse (Warner 1956) gelegt – letztlich jedoch zwei Seiten einer Medaille, da Ergebnisse, die mit einer realistischen Mikroorganismenpopulation erhoben und mit *in vivo* Daten vergleichbar sein sollen, von einer erfolgreichen Simulation der im Pansen herrschenden Bedingungen abhängen. Eine erfolgreiche Simulation der mikrobiellen Verdauung im Pansen erfordert demnach ein anaerobes Habitat, das Entfernen von Fermentationsendproduktion sowie eine Kontrolle von Temperatur, pH, Mischung des Inhalts, Substratzufuhr sowie Ausfluss (Ewart 1974). Ein *in vitro*-System sollte demnach kontinuierlich sein, sobald die Inkubationszeit mehrere Stunden übersteigt. Warner (1956) betont, dass ein geeignetes *in vitro*-System Protozoen wie Bakterien quantitativ und qualitativ erhalten, deren Interaktion und normale Fermentationsraten ermöglichen sowie quantitativ Vorhersagen über *in vivo*-Prozesse ermöglichen sollte.

Geschlossene Systeme

Geschlossene Systeme können aufgrund des fehlenden Abführens von Stoffwechselendprodukten nur über relativ kurze Zeit betrieben werden können, üblicherweise über 24 h. Der **Hohenheimer Futterwert Test** (HFT; Menke und Steingass 1988) (Abbildung 1A+B) bzw. ein System mit geschlossenen Inkubationsflaschen (**Reading pressure technique**, z.B. Theodorou et al. 1994) werden vielfach genutzt um, mit Pansensaft als Inokulum, die Pansenfermentation zu simulieren. Die Futterration der Pansensaftpendertiere ist so eingestellt, dass sowohl cellulolytische sowie amylolytische mikrobielle Aktivität ausreichend vorhanden ist. Ein bicarbonat- (und phosphat-) haltiger Puffer, ähnlich dem Puffersystem im Speichel der Kuh, sowie eine konstante Temperatur von 39°C und regelmäßige Mischung des Pansensaft-Puffer-Futter-Gemisches simulieren das mikrobielle Habitat im Pansen – zumindest so lange, bis sich Fermentationsendprodukte anzuhäufen beginnen. Aufgrund der Kurzzeitinkubationen kann davon ausgegangen werden, dass die Mikrobengemeinschaft in diesen *in vitro*-Systemen derjenigen *in vivo* relativ nahe kommt.

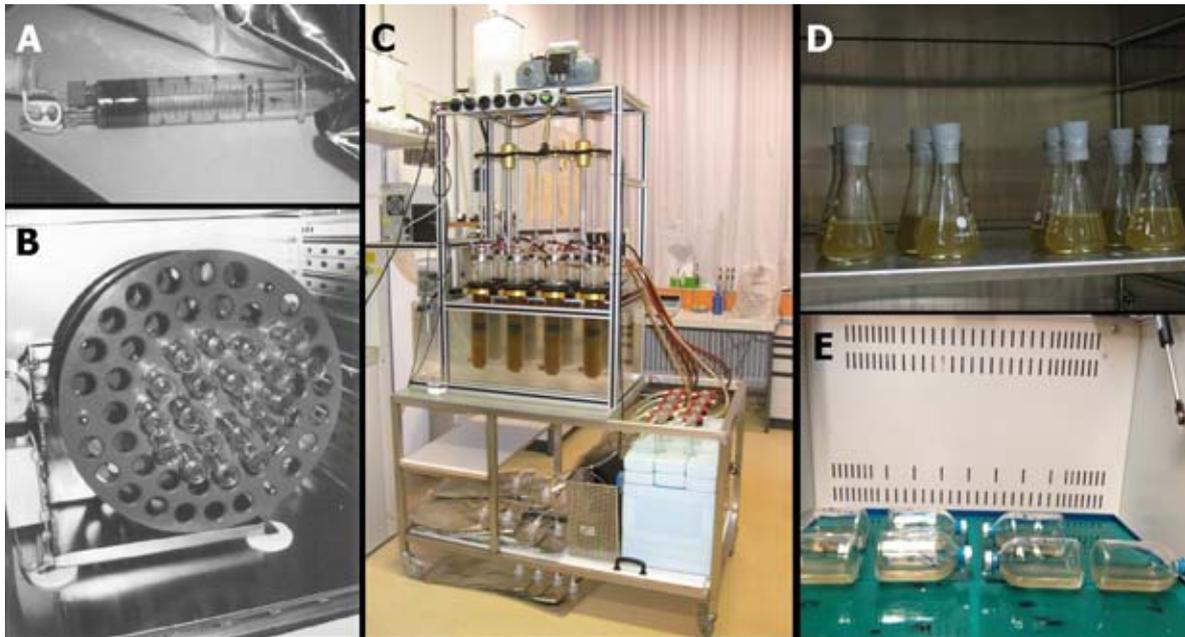


Abbildung 1: Apparaturen und Ausrüstung für *in vitro*-Systeme. A, B: Hohenheim Gas Test (HFT). Dargestellt sind Inkubationsspritzen, modifiziert für die einfache Entnahme von Gasproben (A) sowie der Inkubator mit Rotor (B) (Foto: Soliva und Hess 2007). C: Rusitec-Apparatur. D: *In vitro*-Protozoenkulturen. E: *In vitro*-Kulturen von *Methanobrevibacter ruminantium* (Foto: Xuan Zhou)

Um den mikrobiellen Stoffwechsel zu charakterisieren, werden i. d. R. die Endprodukte der Kohlenhydratfermentation (v. a. kurzkettige Fettsäuren), des Proteinabbaus (v. a. Ammoniak) sowie die Gas- und Methanbildung quantifiziert (Soliva und Hess 2007). Scheinbare oder wahre Abbaubarkeit werden ebenso bestimmt (Makkar et al. 1995, Soliva und Hess 2007). Wenn die Umweltauswirkungen (Methanbildung, Stickstoffeffizienz) verschiedener Fütterungsstrategien im Fokus stehen, ist eine vollständige Aufschlüsselung der Wasserstoff verbrauchenden Prozesse (Methanbildung) bzw. die Aufteilung des Stickstoffs in Mikrobenprotein (Makkar et al. 1995, Boguhn et al. 2006), unabgebautes Futterprotein sowie Ammoniak vorteilhaft. Für eine vollständige Bilanz der Wasserstoffnutzung in einem geschlossenen System ist die Quantifizierung der Methanbildung, der Produktion kurzkettiger Fettsäuren, der Wasserstoffverbrauch durch Zellwachstum sowie, falls relevant, durch die Hydrogenierung ungesättigter Fettsäuren notwendig (Nolan 1999).

Modell-Systeme existieren auch, um etwa die Methanbildung während **der Lagerung von Gülle** oder Mist zu bestimmen. Eine Möglichkeit, die Methanbildung während der Güllelagerung zu bestimmen, ist die Nutzung geschlossener Inkubationsflaschen (z.B. Staerfl et al. 2012) bzw. Fässer (z.B. Klevenhusen et al. 2010). Die Güllelagerung in geschlossenen Inkubationsflaschen wird u. a. für die Bestimmung des Methanbildungspotentials im Biogas-Bereich ('biomethane potential'; Angelidaki et al. 2009) angewandt. In diesem Zusammenhang wurde auch gezeigt, dass die Inkubation in geschlossenen Inkubationsflaschen die Methanbildung in Biogasanlagen vergleichsweise gut abbildet (Sell et al. 2011). Es gibt Vorschläge, eine Standardisierung dieser Methode zu erreichen (Vedrenne et al. 2008, Angelidaki et al. 2009). Für eine erfolgreiche Bestimmung des maximalen Methanbildungspotentials sind demnach frische (<24 h nach Ausscheidung, bzw. bei -20°C gelagert) Gülleproben nötig. Weitere Voraussetzungen sind anaerobe Verhältnisse, ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen Gülle und darüber liegender Gasphase, eine gleich bleibende Temperatur, sowie regelmäßiges, aber nicht zu starkes Mischen. Eine eventuelle Verdünnung der Gülle auf Trockenmassegehalte < 4% sowie auf

Ammoniak-Gehalte < 100 mM und Konzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren auf < 5g/l ist ebenfalls entscheidend (Vedrenne et al. 2008, Angelidaki et al. 2009).

Offene Systeme

Im Gegenzug zu geschlossenen Systemen wird in kontinuierlichen, offenen Systemen täglich Futter/Substrat zugeführt und die Stoffwechselprodukte werden abgeführt.

Das **Pansensimulationssystem RUSITEC** (rumen simulation technique; Czerkawski und Breckenridge 1977) ist ein kontinuierliches System, das i. d. R. bei täglicher Fütterung und konstantem Pufferzu- und Fermentationsflüssigkeitsabfluss über 10 bis 15 Tage, unter Ausschluss von Tageslicht, betrieben wird (Abbildung 1C). Das Durchmischen des sich in Nylonsäckchen befindlichen Futters mit der mikroorganismenreichen Flüssigkeit wird erreicht, indem ein Innenbehälter mit den Futtersäckchen regelmäßig durch die Flüssigkeit bewegt wird. Obwohl in kontinuierlichen Pansensimulationssystemen die Protozoenpopulation i. d. R. im Lauf der Experimentalperiode abnimmt und in dem Zuge sich auch die Zusammensetzung der Methanogenenpopulation ändert (Sharp et al. 1998), scheint eine Kernpopulation von Prokaryoten ähnlich derjenigen im Pansen bestehen zu bleiben, die somit auch funktional der im Pansen ähnelt (Ziemer et al. 2000).

Es gibt Ansätze, die Pansensimulation in kontinuierlichen Systemen weiter zu verbessern. Beispielhaft wären hier der Versuch genannt, eine Fasermatte ähnlich der im Pansen zu etablieren (Muetzel et al. 2009) sowie Systeme, welche die Absorption von kurzkettigen Fettsäuren über die Pansenwand simulieren (Hino et al. 1993).

***In vitro* Kultivierung**

Für Untersuchungen des Stoffwechsels einzelner Mikroben-Arten oder um Interaktionen zwischen definierten Arten zu untersuchen, stehen Reinkulturen aus Kultursammlungen oder durch direkte Isolierung aus dem Pansen zur Verfügung. Die Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) etwa stellt eine Vielzahl von Reinkulturen von Bakterien und Methanogenen zur Verfügung. Protozoen nehmen dabei eine Sonderstellung ein, da deren Kultivierung, wenn sie über mehr als einige Tage geht, nur in Anwesenheit von Bakterien möglich ist und diese daher nicht als Reinkulturen im engeren Sinn kultiviert werden können. Die Untersuchung des Stoffwechsels der Protozoenzellen wird weiterhin dadurch verkompliziert, dass Protozoen auch intrazellulär mit Methanogenen assoziiert sind sowie Bakterien aufnehmen. Für Untersuchungen des Protozoen-Stoffwechsels müssen die Kulturen daher möglichst gut gewaschen und eventuell mit Antibiotika versetzt werden (Belzecki et al. 2010). Trotz solcher Anstrengungen könnten geringe Konzentrationen etwa von Xylanasen, die in *Entodinium caudatum* gefunden wurden, auf intrazelluläre Bakterien zurückzuführen sein (Bera-Maillet et al. 2005), da in dessen Genom keine Hinweise auf Gene gefunden wurden, die im Zusammenhang mit dem Faserabbau stehen (Ricard et al. 2006). Obwohl im Rahmen eines EU-Projektes auch für Protozoen eine Kulturrenbank etabliert wurde (European rumen ciliate culture collection; ERCULE), ist es durchaus gängige Praxis, Protozoen jeweils frisch aus dem Pansen zu isolieren (z.B. Belzecki et al. 2010) und in Batch-Kulturen, in Anwesenheit von Pansen-Prokaryoten, zu vermehren (Abbildung 1D). Im Fall der Protozoen stellt sich auch die Frage, wie gut der Stoffwechsel von langzeitkultivierten Protozoen vergleichbar ist mit Protozoen in ihrem natürlichen Habitat (Kisidayova et al. 2005).

Die Kultivierung von Methanogenen (Abbildung 1E), Bakterien, und Protozoen kann entweder in Batch-Kulturen (z.B. Zeitz et al. 2011, Zhou et al. eingereicht) oder in kontinuierlichen Kulturen (Michalowski 1978, Miller et al. 2005) erfolgen. In Batch-Kulturen stellt ein regelmässiger Transfer von etablierter Kultur, die in frischer Medium überimpft werden, eine „kontinuierliche“ Kultivierung sicher.

Charakterisierung der Pansenmikroorganismen

Eine Mikroorganismengemeinschaft lässt sich durch ihre Dichte und Populationszusammensetzung charakterisieren, durch die Gesamtheit aller Funktionen, die sie potentiell ausführen kann (Gen-Ausstattung, Aktivität auf mRNA-Basis), sowie durch die Funktionen, die tatsächlich ausgeführt werden (Aktivität auf Protein-/Enzyme Ebene).

Die Charakterisierung der Diversität der Mikroorganismen ist nicht ausreichend, um die Wirkung von z.B. Futtermitteln und Futterzusatzstoffen vorherzusagen. So sind etwa Zellzahl und Methanproduktion (Soliva et al. 2003) bzw. Aktivität, gemessen über die Menge an mRNA (Popova et al. 2011), nicht unbedingt korreliert. Allerdings ist auch die Expression des für die Methanbildung unabdingbaren *mcrA*-Gens nicht unbedingt mit der Methanbildung korreliert (Abecia et al. 2010), was die Notwendigkeit verdeutlicht, auch auf Proteinebene zu untersuchen. In Proben aus komplexen Systemen wie z.B. dem Pansen wird die Nutzung der 'omics'-Technologien empfohlen, um den Link zwischen der Gesamtheit aller Gene ('(meta)genomics'), der mRNA ('transcriptomics'), der Proteine ('proteomics') und der gebildeten Metaboliten ('metabolomics') zu machen und Einflüsse auf das System Pansen adäquat zu beschreiben. Untersuchungen der mikrobiellen Populationen und Funktionen im Detail können das Wissen über die im Pansen ablaufenden Vorgänge vertiefen und es ermöglichen, Wirkungsmechanismen aufzuklären. So wird etwa der initiale Celluloseabbau im Pansen von nur wenigen Mikroorganismenarten ausgeführt, in deren Genom die entsprechend nötigen Gene übermäßig stark vertreten sind (Wallace 2008). Zur Aufklärung der Prozesse, die zur subklinischen Azidose führen, waren mikrobielle Untersuchungen ebenso wichtig wie Untersuchungen im Stoffwechsel der Kuh (Gohzo et al. 2005, Krause und Oetzel 2006). Es kommt zur Störung des Gleichgewichtes von laktatproduzierenden und laktatverwertenden Bakterien, zu einer verringerten Diversität und damit Stabilität der Mikroorganismengemeinschaft und der verstärkten Freisetzung von Endotoxinen, vermutlich durch die Lysis gram-negativer Bakterien. Das verstärkte Eintreten der Endotoxine in den Blutkreislauf durch das durch geringe pH-Werte angegriffene Pansenepithel sind verantwortlich für den Anstieg von Akute-Phase-Proteinen/Entzündungsmarkern im Blut sowie weiterer Folgeprozesse (Gohzo et al. 2005, Krause und Oetzel 2006). Es sei hier aber noch angemerkt, dass fehlendes oder unvollständiges Wissen über das genaue Zusammenspiel der Mikroorganismen im Pansen erfolgreiche Manipulationen, z.B. über die Fütterung, nicht verhindern muss.

Populationszusammensetzung der Pansenmikroorganismen

Verschiedene Techniken stehen zu Verfügung, um die Zellzahlen sowie die Populationszusammensetzung verschiedener Gruppen von Mikroorganismen zu erfassen (für Zusammenstellungen siehe McSweeney et al. 2007 und Sirohi et al. 2012). Diese haben das Ziel, das Wissen um die mikrobiellen Interaktionen und um die Einflussfaktoren auf die mikrobielle Diversität zu erweitern. Unter den molekularen Techniken ist, wenn Informationen über unkultivierte und unbekannte Mikroorganismen im Vordergrund stehen, z.B. die DNA-Sequenzierung die Methode der Wahl. Im Gegenzug kommen oft DNA-Sonden-basierte Techniken zum Einsatz, wenn man weiß, nach welchen Mikroorganismen man suchen muss. Die Liste der im Folgenden genannten Techniken erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Die **Lichtmikroskopie** ist insbesondere zur Charakterisierung der Protozoen geeignet, da diese aufgrund ihrer Größe (Pansen-Ciliaten: Länge ca. 10 – 400 µm) bereits unter 100-400-facher Vergrößerung gut gezählt und unterschieden werden können (z.B. Zeitz et al. 2012). Die Klassifizierung der Protozoen auf Ebene der Familie, Gattung oder Art erfordert jedoch Kenntnisse über die artspezifische Morphologie/Anatomie und ist zeitaufwendig.

Man nimmt an, dass nur < 15% der Pansenmikroorganismen identifiziert oder kultiviert sind. Der Nachweis von Pansenmikroorganismen durch **Kultivierung** hat, neben dem hohen Zeitaufwand, den

Nachteil, dass nicht alle Mikroorganismen auf diese Weise nachweisbar sind. Die Differenzierung von Mikroorganismen geschieht hier durch das Wachstum auf Medien mit verschiedenen Nährstoffen oder Zusatzstoffen oder deren Fehlen – und ist damit direkt mit den Fähigkeiten verbunden, welche die Mikroorganismen besitzen. Dies hat den Nachteil, dass der Nachweis einzelner Arten i. d. R. fast nicht möglich ist. Als vorteilhaft kann dagegen betrachtet werden, dass die Mikroorganismen anhand ihrer Fähigkeiten gruppiert werden – dies ist insbesondere dann günstig, wenn noch wenig darüber bekannt ist, welche Art(en) im Pansen für den Abbau oder Umbau einzelner Substanzen verantwortlich sind und deshalb nicht spezifisch nach diesen Arten gesucht werden kann. Beispielhaft soll hier der Nachweis tannin-resistenter Bakterien genannt werden: nach 3.5 Wochen mit bis zu 2% *Acacia*-Tannin im Futter stieg der Anteil tannin-resistenter Bakterien (0.05% Tannin im Kultivierungsmedium) im Mäuse-Kot auf bis zu 50% aller kultivierbarer Bakterien an (Smith and Mackie, 2004).

Der Nachweis von einzelnen Gruppen von Pansenmikroorganismen bzw. der mikrobiellen Populationszusammensetzung im Pansen ist auch durch den Nachweis von art-, gattungs-, familien- oder ordnungsspezifischen DNA-Fragmenten möglich – unter der Voraussetzung, dass (Teil-)DNA-Sequenzen der jeweiligen Gruppe bekannt sind, die in Form von kurzen einzelsträngigen DNA-Fragmenten als Sonden eingesetzt werden können. Dieser Nachweis mikrobieller DNA kann sowohl erfolgen, wenn sich die DNA noch in der Zelle befindet (*in situ*-Hybridisierung) als auch wenn diese isoliert vorliegt (z.B. PCR- und Sequenzierungs-Techniken, Southern Blot).

Bei der **Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH)** werden zentrifugierte, in Puffer resuspendierte Zellen, deren Zellwand perforiert wurde, auf einem Objektträger fixiert, bevor mit einem Fluoreszenz-Farbstoff markierte DNA-Sonden mit der DNA innerhalb der Zellen hybridisiert werden. Unter dem Fluoreszenz-Mikroskop kann per Auge oder mithilfe von Software ausgezählt werden. So konnte z.B. eine Veränderung der Populationszusammensetzung der methanogenen Population in Abhängigkeit von der Zugabe an gesättigten Fettsäuren nachgewiesen werden (Soliva et al. 2004). Kong et al. (2010) evaluierten den Einfluss von Leinsaat in Abhängigkeit von der Basisration auf die bakterielle und methanogene Population. Vorteilhaft ist, dass die Zellen so tatsächlich „gezählt“ werden können – im Gegensatz zu Methoden, die mit isolierter DNA arbeiten und daher mit DNA-Kopienzahlen (copy numbers), die nicht mit der Zellzahl gleichzusetzen sind und, wenn relativ quantifiziert wird, eine Referenzgröße (z.B. totale Bakterienpopulation) erfordern. Die FISH ist im Vergleich mit PCR-basierten Techniken allerdings weniger sensitiv und sehr viel zeitaufwendiger. Mit der Fluoreszenz-Mikroskopie kann mithilfe geeigneter Fluoreszenz-Farbstoffe auch unterschieden werden, ob Zellen lebendig oder tot sind (Lebend-/Tot-Färbung; **LIVE/DEAD staining**), was auf der Suche nach Mechanismen, etwa den Mechanismen der Hemmung von Methanogenen durch gesättigte Fettsäuren wertvolle Hinweise liefern kann (Zhou et al. eingereicht).

Mit der **Polymerasekettenreaktion (PCR)** wird die zuvor aus Zellen isolierte DNA millionenfach vervielfältigt. Voraussetzung ist, dass zumindest eine Teil-DNA-Sequenz des fraglichen Mikroorganismus oder der nachzuweisenden Gruppe bekannt ist, die dann in Form von kurzen Nukleotid-Sequenzen als Primer dient, und im DNA-Mix der Zelle die Ziel-DNA für die Amplifizierung markiert. Dies kann in der klassischen oder kompetitiven „Endpunkt-PCR“ geschehen, in welcher der qualitative Nachweis der vervielfältigten DNA über die Gel-Elektrophorese geschieht, oder in der „real-time“ PCR, in der quantitative Daten generiert werden. Primer sind für den Nachweis der wichtigsten Arten und/oder Gruppen von Bakterien, Methanogenen, Protozoen und Pansenpilzen vorhanden (McSweeney et al. 2007).

Neben der direkten Auswertung der generierten Daten kann die DNA mit verschiedenen Methoden weiterbearbeitet werden, etwa für die **DNA-Sequenzierung**. Um die taxonomische Diversität zu analysieren, kommen z.B. Primer zum Einsatz, die spezifisch für Bakterien, Methanogene oder Eukaryoten sind. Anschliessend wird die komplette Sequenz der in der PCR vervielfältigten DNA bestimmt und kann anhand von Vergleichen mit Datenbanken im Idealfall bis auf Artebene zugeordnet werden. Verschiedene Sequenzierungsmethoden stehen zur Verfügung, etwa die Sanger-Sequenzierung und

die modernen 'Next Generation Sequencing'-Techniken (z.B. Pyrosequencing), die in letzter Zeit verstärkt genutzt werden. So ist z.B. ein internationales Projekt im Gange, in dem die Diversität der Bakterien, Pilze, Protozoen, Methanogene und Acetogenen im Pansen verschiedenster Nutz- und Wildwiederkäuer in verschiedensten Regionen der Welt analysiert wird (www.globalrumencensus.org.nz). Wurde in der PCR die DNA einer ganze Gruppe von Mikroorganismen vervielfältigt, kann die DNA z.B. auch mit 'Fingerprinting'-Techniken wie der **Denaturierenden Gradienten-Gelelektrophorese (DGGE)** weiter in mehrere getrennte DNA-Banden aufgeteilt werden. Es entstehen Profile, die einen Vergleich der Diversität der untersuchten mikrobiellen Gruppe ermöglichen, allerdings nicht die Zuordnung zu taxonomischen Gruppen – wenn nicht z.B. eine Sequenzierung einzelner Banden erfolgt.

Trotz des Vorteils, dass mit PCR-basierten Techniken auch unkultivierte Mikroorganismen nachgewiesen werden können, und dass eine sehr viel umfassendere und schnellere Beschreibung der mikrobiellen Gemeinschaften möglich ist als mit klassischen Methoden, müssen die damit generierten Daten stets mit Bedacht interpretiert werden. Mehrere Publikationen zeigen, dass etwa die Wahl der DNA-Extraktionsmethode (Bergmann et al. 2010) oder der Primer (Tymenson and McAllister 2012) die erzielten Ergebnisse stark beeinflusst.

Genetische Ausstattung der Pansenmikroorganismen

Die genetische Ausstattung einzelner Pansenmikroorganismen (Genom) kann mithilfe der DNA-Sequenzierung bestimmt werden. Wird die gesamte genomische DNA aus dem Pansensaft extrahiert (Metagenom) und sequenziert, so wird die genetische Ausstattung der gesamten Pansenmikroorganismengemeinschaft und damit die Ausstattung an funktionalen Genen, unabhängig von ihrer taxonomischen Klassifizierung, bestimmt (Singh et al. 2012, Ross et al. 2012). Auf diese Weise können z.B. auch zusätzlich zur Entwicklung der Mikroorganismendiversität die Änderungen in der funktionalen Genausstattung im Kalb im Verlauf des Wachstums verfolgt werden (Li et al. 2012). Das Genom der wichtigen Pansenmethanogenenart *Methanobrevibacter ruminantium* wurde kürzlich sequenziert, u. a. um mögliche Zielstrukturen für dessen Hemmung zu finden (Leahy et al. 2010).

Aktivität der Pansenmikroorganismen

Um Proteine/Enzyme zu bilden, müssen in der Mikroorganismenzelle Gene aktiviert bzw. exprimiert werden (Transkription). Zellen synthetisieren zunächst, ausgehend von der DNA-Sequenz des jeweiligen Zielgens, mRNA, die dann in Proteine umgesetzt werden (Translation). Die Genexpression einzelner Gene wird bestimmt, indem nach Extraktion der RNA und dem Umschreiben in cDNA genspezifische Primer in der Real-Time PCR eingesetzt werden, die nur die Ziel-DNA vervielfältigen. So wurde etwa nachgewiesen, dass nach Anwendung einer methansenkenden Fütterungsstrategie, trotz gleichbleibender Kopienzahl an Methanogenen die methanogene Aktivität, gemessen über die Menge an mRNA des für die Methanbildung unabdingbaren *mcrA* Gens, sank (Popova et al. 2011). Möglichkeiten, ein ganzes Set an exprimierten, bekannten Zielgenen nachzuweisen, bieten sich mit **Microarray**-Untersuchungen (z.B. Leahy et al. 2010). Sind die Zielgene nicht *a priori* bekannt und soll die Gesamtheit der mRNA in einer Zelle analysiert werden, kann die **RNA-Sequenzierung** eingesetzt werden (Roy et al. 2011). Wenige Studien beschreiben allerdings bisher die Anwendung der RNA-Sequenzierung in Panseninhalt (Wang et al. 2011, Poulsen et al. 2013). Mithilfe von Quantifizierungen methanogener DNA, Genexpressionsanalysen sowie ergänzender *in vitro* Untersuchungen von Pansensaft wurde so beispielsweise herausgearbeitet, dass durch Rapsölzulegen zu einer Milchviehration besonders die „Thermoplasmata“, eine neu entdeckte Ordnung von Methanogenen, gehemmt wurden, und dass diese Methylamine als Substrat nutzen (Poulsen et al. 2013).

Wie oben erwähnt, ist die Ebene der mRNA nicht ausreichend, um die tatsächlichen Aktivitätsänderungen auf Proteinebene zu beschreiben. Da einerseits die mRNA nicht in jedem Fall in eine Proteinsequenz umgesetzt wird, und andererseits die Proteinsequenzen post-translational modifiziert werden (können) sowie zudem die Aktivität des Proteins/Enzyms selbst reguliert werden kann, zeigt die Menge an mRNA zwar die Aktivität der Gene an, jedoch nicht, wie viel Protein gebildet wurde und wie aktiv die gebildeten Proteine sind. Methoden der Proteomics, oder Enzymaktivitäts-Assays ergänzen daher die Daten, die in der Genexpressionsanalyse gewonnen werden sowie das Wissen um Zellzahlen und Populationszusammensetzung. Bei der Verfütterung von *Sapindus*-Saponinen an Schafe zeigte sich etwa, dass die Zellzahlen wichtiger faserabbauenden Mikroorganismen nicht mit den gemessenen Aktivitäten von Xylanase und Carboxymethylcellulase korreliert waren (Wina et al. 2005).

Um den Link zwischen der Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft und den von ihnen ausgeübten Funktionen zu machen, bietet sich auch der Einsatz stabiler Isotope an (Stable Isotope Probing, SIP; Radajewski et al. 2000, McSweeney et al. 2007, Robinson et al. 2010). So können etwa mithilfe von mit stabilen Isotopen markierten Substraten gezielt die metabolischen Wege dieser Substrate im Verdauungstrakt verfolgt und, verbunden mit nukleinsäure-basierten Techniken (s. oben), die dafür entscheidenden Mikroorganismen identifiziert werden. In Kälberkot wurden so etwa mithilfe von ¹³C-gelabelter Fructose fructose-fermentierende Bakterien identifiziert (Michinaka und Fujii 2012).

Literatur

- Abecia, L. Molina-Alcaide, E., Martin-Garcia, A.I., Martinez, G., Yanez-Ruiz, D.R. (2010): Animal variation in methane production, expression of *mcrA* gene and microbial numbers in the rumen of goats fed alfalfa hay with or without oats. Proceedings of the Greenhouse Gases and Animal Agriculture Conference, Oct 3-8, Banff, Canada.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., van Lier, J.B. (2009): Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Wat. Sci. Technol.* 59, 927-34.
- Belzecki, G., Miltko, R., Kwiatkowska, E., Michalowski, T. (2010): Mureinolytic ability of the rumen ciliate *Diploplastron affine*. *Folia Microbiol.* 55 (4), 312-314.
- Bera-Maillet, C., Devillard, E., Cezette, M, Jouany, J-P., Forano, E. (2005): Xylanases and carboxymethylcellulases of the rumen protozoa *Polypastron multivesiculatum*, *Eudiplodinium maggii* and *Entodinium sp.* *FEMS Microbiol. Lett.* 244, 149-156.
- Bergmann, I., Mundt, K., Sontag, M., Baumstark, I., Nettmann, E., Klocke, M. (2010): Influence of DNA isolation on Q-PCR-based quantification of methanogenic Archaea in biogas fermenters. *Syst. Appl Microbiol.* 33, 78-84.
- Boguhn, J. Kluth, H., Rodehutschord, M. (2006): Effect of total mixed ration composition on fermentation and efficiency of ruminal microbial crude protein synthesis *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 89:1580-1591.
- Casamiglia, S., Stern, M.D. (1995): A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. *J. Anim. Sci.* 73, 1459-1465.
- Czerkawski, J.W., Breckenridge, G. (1977): Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *Br. J. Nutr.* 38, 371-384.
- De Boever, J.L., Cottyn, B.G., Buysse, F.X., Wainman, F.W. and Vanacker, J.M. (1986): The use of an enzymatic technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of compound feedstuffs for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 14, 203-214.
- Ewart J.M. (1974): Continuous *in vitro* rumen systems. *Proc. Nutr. Soc.* 33, 125-133.
- Gohzo, G.N., Plaizier, J.C., Krause, D.O., Kennedy, A.D., Wittenberg, K.M. (2005): Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *J. Dairy Sci.* 88, 1399-1403.
- Hindrichsen, I.K., Kreuzer, M. (2009): High methanogenic potential of sucrose compared with starch at high ruminal pH. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 93, 61-65.
- Hino, T., Sugiyama, M., Okumura, K. (1993): Maintenance of protozoa and methanogens, and fiber digestion in rumen.simulating continuous culture. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 39, 35-45.
- Hu, Z.-H., Yu, H.-Q., Zhu, R-F. (2005): Influence of particle size and pH on anaerobic degradation of cellulose by rumen microbes. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 55, 233-238.
- Ineichen, S. (2013): Influence of hay rich in sugar on the microbial profile in the rumen and physiological processes in the rumen wall of dairy cows. Master thesis. ETH Zurich/Agroscope Liebefeld-Posieux.

- Kisidayova, S., Varadyova, Z., Michalowski, T., Newbold, C.J. (2005): Regeneration of cryoresistance of *in vitro* rumen ciliate cultures. *Cryobiology* 51, 76–84.
- Klevenhusen F., Bernasconi, S.M., Kreuzer, M., Soliva, C.R. (2010): Experimental validation of the Intergovernmental Panel on Climate Change default values for ruminant-derived methane and its carbon-isotope signature. *Anim. Prod. Sci.* 50 (3), 159–167.
- Krause, K.M., Oetzel, G.R. (2006): Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 6, 215–236.
- Kong, Y., He, M., McAllister, T., Seviour, R., Forsten, R. (2010): Quantitative fluorescence *in situ* hybridization of microbial communities in the rumens of cattle fed different diets. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(20), 6933.
- Leahy, C.S., Kelly, W.J., Altermann, E., Ronimus, R.S., Yeoman, C.J., Pacheco, D.M., Li, D., Kong, Z., McTachish, S., Sang, C., Lambie, S.C., Janssen, P.H. (2010): The genome sequence of the rumen methanogen *Methanobrevibacter ruminantium* reveals new possibilities for controlling ruminant methane emissions. *PLoS ONE* 5(1): e8926. doi:10.1371/journal.pone.0008926.
- Li, R.W., Connor, E.E., Li, C., Baldwin, R.L., Sparks, M.E. (2012): Characterization of the rumen microbiota of pre-ruminant calves using metagenomic tools. *Environmen. Microbiol.* 14(1), 129–139.
- Makkar, H.P.S., Blümmel, M., Becker, K (1995): In Vitro Effects of and Interactions between Tannins and Saponins and Fate of Tannins in the Rumen. *J Sci Food Agric* 1995,69,48 1-493.
- McSweeney, C.S., Denman, S.E., Wright, A-D.G., Yu, Z. (2007): Application of recent DNA/RNA-based techniques in rumen ecology. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20(2), 283-294.
- Menke K.H., Steingass H. (1988): Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 18, 7-55.
- Michałowski T. (1978): A simple system for continuous culture of rumen ciliates. *Bull Acad Pol Sci Biol.* 27, 581–583.
- Michinaka, A., Fujii, T. (2012): Efficient and direct identification of fructose fermenting and non-fermenting bacteria from calf gut microbiota using stable isotope probing and modified T-RFLP. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 58, 297-307.
- Miller, T.L., Currenti, E., Wolin, M.J. (2000): anaerobic bioconversion of cellulose by *Ruminococcus albus*, *Methanobrevibacter smithii*, and *Methanosarcina barkeri*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54, 494-498.
- Muetzel, S., Lawrence, P., Hoffmann, E.M., Becker, K. (2009): Evaluation of a stratified continuous rumen incubation system. *Anim. Feed Sci. Technol.* 151, 32–43.
- Nolan, J.V. (1999): Stoichiometry of rumen fermentation and gas production. In: P.J. Reyenga and S.M. Howden (eds) (1999) Meeting the Kyoto Target. Implications for the Australian Livestock Industries. Bureau of Rural Sciences, Canberra.
- Popova, M., Martin, C., Eugène, M., Mialon, M.M., Doreau, M., Morgavi, D.P. (2011): Effect of fibre- and starch-rich finishing diets on methanogenic Archaea diversity and activity in the rumen of feedlot bulls. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166–167, 113–121.
- Poulsen, M., Schwab, C., Jensen, B.B., Engberg, R.M., Spang, A., Canibe, N., Hojberg, O., Milinovich, G., Fragner, L., Schleper, C., Weckwerth, W., Lund, P., Schramm, A., Urich, T. (2013): Methylophilic methanogenic Thermoplasmata implicated in reduced methane emissions from bovine rumen. *Nature Communications* 4, 1428-1433.
- Radajewski, S., Ineson, P., Parekh, N.R., Murrell, J.C. (2000): Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology. *Nature* 403, 646-649.
- Ricard, G., McEwan, N.R., Dutilh, B.E., Jouany, J-P., Macheboeuf, D., Mitsumori, M., McIntosh, F.M., Michałowski, T., Nagamine, T., Nelson, N., Newbold, C.J., Nsabimana, E., Takenaka, A., Thomas, N.A., Ushida, K., Hackstein, HP., Huynen, M.A. (2006): Horizontal gene transfer from bacteria to rumen ciliates indicates adaptation to their anaerobic, carbohydrates-rich environment. *BMC Genomics* 7, 22–34.
- Robinson, C.J., Bohannan, B.J.M., Young, V.B. (2010): From Structure to Function: the Ecology of Host-Associated Microbial Communities. *Microbiol and Molecul. Biol. Review* 74(3), 453–476.
- Ross, E.M., Moate, P.J., Bath, C.R., Davidson, S.E., Sawbridge, T., Guthridge, K.M., Cocks, B.G., Hayes, B.J. (2012): High throughput whole rumen metagenome profiling using untargeted massively parallel sequencing. *BMC Genetics* 13, 53-67.
- Roy, N.C., Altermann, E., Park, Z.A., McNabb, W.C. (2011): A comparison of analog and Next-Generation transcriptomic tools for mammalian studies. *Briefings in Functional Genomics*. doi:10.1093/bfpg/elr005.
- Sell, S.T. (2011): A scale-up procedure for substrate co-digestion in anaerobic digesters through the use of substrate characterization, BMPs, ATAs, and sub pilot-scale digesters. PhD Thesis. Iowa State University.
- Sharp, R., Ziemer, C.J., Stern, M.D., Stahl, D.A. (1998): Taxon-specific associations between protozoa and methanogen populations in the rumen and a model rumen system. *FEMS Microbiol. Ecol.* 36, 71-78.

- Singh, K.M., Ahir, V.B., Tripathi, A.K., Ramani, U.V., Sajjani, M., Koringa, P.G., Jakhesaa, S., Pandya, P.R., Rank, D.N., Murty, D.S., Kothari, R.K., Joshi, C.G. (2012): Metagenomic analysis of Surti buffalo (*Bubalus bubalis*) rumen: a preliminary study. *Mol Biol Rep* 39, 4841–4848.
- Sirohi, S.K., Singh, N., Dagar, S.S., Puniya, A.K. (2012): Molecular tools for deciphering the microbial community structure and diversity in rumen ecosystem. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 95, 1135–1154.
- Smith, A.H., Mackie, R.I. (2004): Effect of condensed tannins on bacterial diversity and metabolic activity in the rat gastrointestinal tract. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(2), 1104–1115.
- Soliva, C.R., Hess, H.D., Meile, L., Kreuzer, M., Machmüller, A. (2003): Suppression of ruminal methanogenesis by dietary means: apparent inconsistency between methane release and counts of microbes involved in ruminal methanogenesis. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 3, 209–213.
- Soliva, C. R., Hess, H.D. (2007): Measuring methane emission of ruminants by *in vitro* and *in vivo* techniques. In: Makkar, H.P.S., Vercoe, P.E. (Eds.), *Measuring Methane Production from Ruminants*. IAEA. Springer, The Netherlands. Chapter 2, pp. 15–31.
- Soliva, C.R., Meile, L., Cieslak, Kreuzer, M., Machmüller, A. (2004): Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis. *Br. J. Nutr.* 92, 689–700.
- Staerfl, S.M., Bosshard, C., Graf, C., Zeitz, J.O., Kreuzer, M., Soliva, C.R. (2012): Einfluss von Jahreszeit und Fütterung auf die Methanemission aus Schweizer Milchviehgülle. *Agrarforschung Schweiz* 3, 322–329.
- Tilley, J.M.A., Terry, R.A. (1963): A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Brit. Grassland Soc.* 18, 104–111.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., France, J. (1994): A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 185–197.
- Tymenson, L.D., McAllister, T.A. (2012): Community structure analysis of methanogens associated with rumen protozoa reveals Bias in universal Archaeal primers. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 4051–4056.
- Varadyova, Z., Zeleniak, I., Siroka, P. (2000): *In vitro* study of the rumen and hindgut fermentation of fibrous materials (meadow hay, beech sawdust, wheat straw) in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 83, 127–138.
- Vedrenne, F., Beline, F., Dabert, P., Bernet, N. (2008): The effect of incubation conditions on the laboratory measurement of the methane producing capacity of livestock wastes. *Biores. Technol.* 99 (1), 146–155.
- Wallace, R.J. (2008): Gut microbiology – broad genetic diversity, yet specific metabolic niches. *Animal* 2(5), 661–668.
- Wang, P., Qi, M., Barboza, P., Leigh, M.B., Ungerfeld, E., Selinger, L.B., McAllister, T.A., Forster, R.J. (2011): Isolation of high-quality total RNA from rumen anaerobic bacteria and fungi, and subsequent detection of glycoside hydrolases. *Can. J. Microbiol.* 57, 590–598.
- Warner, A.C.I. (1956): Criteria for establishing the validity of *in vitro* studies with rumen microorganisms in so-called artificial rumen systems. *J. Gen. Microbiol.* 14, 733–748.
- Wina, E., Muetzel, S., Becker, K. (2005): The dynamics of major fibrolytic microbes and enzyme activity in the rumen in response to short- and long-term feeding of *Sapindus rarak* saponins. *J. Appl. Microbiol.* 100, 114–122.
- Zeitz, J.O., Meile, L., Michałowski, T., Kreuzer, M., Soliva, C.R. (2011): Suitability of different media for *in vitro* cultivation of the ruminal protozoa species *Entodinium caudatum*, *Eudiplodinium maggii*, and *Epidinium ecaudatum*. *Europ. J. Protistol.* 47, 314–317.
- Zeitz, J.O., Amelchanka, S.L., Michałowski, T., Wereszka, K., Meile, L., Hartnack, S., Kreuzer, M., Soliva, C.R. (2012): Effect of the rumen ciliates *Entodinium caudatum*, *Epidinium ecaudatum* and *Eudiplodinium maggii*, and combinations thereof, on ruminal fermentation and total tract digestion in sheep. *Arch. Anim. Nutr.* 66(3), 180–199.
- Ziemer, C.J., Sharp, R., Stern, M.D., Cotta, M.A., Whitehead, T.R., Stahl, D.A. (2000): Comparison of microbial populations in model and natural rumens using 16S ribosomal RNA-targeted probes. *Environmen. Microbiol.* 2(6), 632–643.
- Zhou, X., Meile, L., Kreuzer, M., Zeitz, J.O.: The effect of saturated fatty acids on methanogenesis and cell viability of *Methanobrevibacter ruminantium*. *Archaea* (under revision).

Autorenanschrift

Dr. Johanna O. Zeitz
Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Justus-Liebig-Universität Gießen, Interdisziplinäres Forschungszentrum (IFZ)
Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 Gießen
E-Mail: Johanna.O.Zeitz@ernaehrung.uni-giessen.de

Mischgenauigkeit – Möglichkeiten zur Kontrolle

Franz Doppelreiter

Institut für Tierernährung und Futtermittel, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES), Wien, AT

Mit Umsetzung der Anforderungen der EU-Verordnung 882/2004 hat der Risikoorientierung verstärkt Einzug in die Futtermittelkontrolle gehalten. Seither kommt der Eigenverantwortung und damit auch der Eigenkontrolle der Futtermittelunternehmer eine stetig steigende Bedeutung zu. Ein wesentlicher Anteil der Eigenverantwortung der Futtermittelunternehmer liegt in der Sicherstellung der Funktionstüchtigkeit der Mischfutterproduktionsanlage. Diese kann anhand der Mischgenauigkeit oder Mischgüte überprüft werden.

Mischgenauigkeit ist ein relativ weitläufiger Begriff und wird für die Behandlung des Themas auf zwei konkrete Anwendungsfälle eingeschränkt: Homogene Einmischbarkeit von Futterkomponenten, insbesondere Futtermittelzusatzstoffe und Verschleppung von einer Charge zur nächsten. Dabei ist es wichtig, die gesamte Produktionsanlage zu betrachten und in die Prüfung einzubeziehen und nicht nur den isolierten Mischer selbst.

Die gesetzlichen Grundlagen für die Mischgüte sind sowohl in den Rechtstexten der EU als auch den nationalen Gesetzen sehr allgemein gehalten. Mit der Festlegung von zulässigen Rückständen an Kokzidiostatika gemäß Abschnitt VII des Anhangs I der Richtlinie 2002/32/EG im Ausmaß von maximal 1 % der erlaubten höchsten Einsatzmenge gibt es die einzige konkrete mengenmäßige Festlegung für Verschleppungen. Unter Berücksichtigung eines Sicherheitszuschlages sollte in der Praxis ein Wert von 0,5 % angestrebt werden, der von marktüblichen Anlagen ohne Spülcharge nicht immer problemlos erreicht werden kann. Untersuchungen des IFF Braunschweig an mehr als 350 Mischanlagen ergaben Verschleppungsraten von bis zu 10 %. In diesem Zusammenhang ist anzumerken, dass die Herstellung von Fütterungsarzneimitteln mit fahrbaren Mahl- und Mischanlagen, die auch für die Herstellung sonstiger Futtermittel Verwendung finden eher kritisch zu sehen ist, da eine Reihe von Medikamenten auch noch nach mehreren Folgechargen ohne Einsatz der betreffenden Substanz nachweisbar sind, wie eine Publikation von D.W.R. Bleyl und K. Bosshammer aus dem Jahre 2007 ausführt. Andere gesetzliche Forderungen beschränken sich auf die allgemeinen Anforderungen gemäß § 3 und die betrieblichen Anforderungen gemäß § 12 des Futtermittelgesetzes 1999 in der aktuell gültigen Fassung. Im Rahmen der Regelungen für die Futtermittelhygiene entsprechend Verordnung (EG)183/2005 finden sich maßgebliche Anforderungen im Anhang II. Unter Einrichtung und Ausrüstung wird allgemein und ohne Festsetzung konkreter quantitativer Orientierungswerte gefordert, dass Schritte zur Vermeidung des Risikos von Kreuzkontamination zu setzen sind und die Fähigkeit der Mischanlage zur Herstellung homogener Mischungen nachzuweisen ist. Im Zuge der Herstellung werden zudem ausreichende Eigenkontrollen verlangt, die den Nachweis der Funktion der Mischanlage einschließen.

Ausgehend von früheren Anforderungen, wie beispielsweise der Beigabe von Vormischungen zu Mischfutter im Mindestausmaß von 0,05 % für dazu berechnete Betriebe (§ 18 der bereits ersetzten und somit nicht mehr gültigen Futtermittelverordnung 2000) ergab sich eine geforderte Mischgenauigkeit von 1:2.000, die mit Sicherheitszuschlag auf 1: 10.000 angehoben wurde. Dieser Wert ist nach wie vor als behördliche Mindestforderung für gewerbliche Mischanlagen anzusehen. In der Praxis ist es jedoch üblich, dass viele Hersteller von Mixern schon seit geraumer Zeit einen Standard von 1:100.000 für ihre Produkte ansetzen, damit auch Vormischungen mit einer ausreichenden Mischgenauigkeit hergestellt werden können.

Für die Überprüfung der Mischgenauigkeit haben sich in der Praxis eine Vielzahl von unterschiedlichen Methoden etabliert. Dabei ist es wichtig, zu unterscheiden, welche Mischer Gegenstand der Überprüfung sind und welches Mischgut mit den jeweiligen Geräten verarbeitet werden soll. Als große Gruppen kann man dabei folgende vier Gruppen unterscheiden:

- Landwirtschaftliche Mischwagen für die Herstellung von TMR
- Mobile Mischer mit Fassungsvermögen von 50 kg bis 2.500 kg für den unmittelbaren und auch überbetrieblichen Einsatz am landwirtschaftlichen Betrieb, die entweder in ein Fütterungssystem eingebunden sind, oder auch isoliert betrieben werden, z.B. zur Herstellung von Fütterungsarzneimitteln. Als mögliche Bauformen werden hier Trommel-, Schräg- und Vertikalmischer angetroffen
- Mobile Mahl- und Mischanlagen, die als Dienstleister fungieren
- Gewerbliche Mischanlagen bei Mischfutterherstellern

Die Überprüfung der Mischgenauigkeit darf nicht als Einmalereignis betrachtet werden, sondern muss je nach technischer Beanspruchung einer Anlage in regelmäßigen Abständen wiederholt werden. Hauptursache für die Veränderungen der Funktionstüchtigkeit einer Mischanlage ist der Materialverlust an den produktberührenden Teilen infolge Abnutzung. Es erscheint also nachvollziehbar und logisch, dass der Metallabtrag an Mischpaddeln, -wellen oder -schnecken bei der Verarbeitung von mineralischen Komponenten im zeitlichen Verlauf rascher von Statten geht als beim Einsatz mit mehrheitlich pflanzlichen Rohstoffen. Als grober Orientierungswert für die Wiederholung einer Überprüfung der Mischgenauigkeit sollte ein Zeitraum von etwa 5 Jahren ins Auge gefasst werden. Diese Frequenz wurde auch beim letzten Audit des FVO (Food and Veterinary Office) in Österreich im Jänner dieses Jahres im Rahmen einer sogenannten EU-Inspektion vorgeschlagen bzw. bestätigt. Bei Neugeräten kann die Überprüfung der Mischgenauigkeit dann entfallen, wenn seitens der Hersteller entsprechende Zertifikate aufgrund von Eigenuntersuchungen mitgeliefert werden.

Vor Behandlung der einzelnen Möglichkeiten ist vorzuschicken, dass eine Methode ausreichend genau sein muss, sich jedoch der Aufwand für die Untersuchung und damit die Kosten in Grenzen halten sollte. Zudem geht der Trend in die Richtung, dass Marker eingesetzt werden, die eine Weiterverwendung der Testchargen in der Tierernährung erlauben, was in früheren Zeiten durch den Einsatz von z.B. Kobaltsalzen oder giftigen Farbstoffen wie Methylviolett nicht immer der Fall war. Weiters ist darauf zu achten, dass im Zuge aller Methoden eine ausreichende Menge an Einzelproben gezogen und untersucht werden muss, damit das Ergebnis statistisch ausgewertet werden kann und somit aussagekräftig ist. Nicht unwesentlich ist auch die Thermostabilität von Markern, wenn ein Test mit pelletiertem Futter durchgeführt wird. Das ist v.a. beim Einsatz von Farbstoffen zu beachten. Wenn mit zugesetzten oder im Produkt enthaltenen Markern gearbeitet wird, ist wesentlich, dass diese Stoffe möglichst keine elektrostatischen Eigenschaften oder sonstige chemisch-physikalische Besonderheiten aufweisen, die eine Untersuchung verfälschen könnten.

TMR – Mischwagen am landwirtschaftlichen Betrieb

Bei Mischwägen können die Fraktionen der einzelnen Futterkomponenten im Gegensatz zu handelsüblichem Mischfutter sehr unterschiedlich sein. Neben mehlförmigen Anteilen wird auch Rauhfutter eingesetzt, das durch den Einsatz von Schneidwerkzeugen im Zuge des Mischvorgangs weiter zerkleinert wird. Eine wichtige Rolle zur Überprüfung der Mischgenauigkeit spielt in diesem Fall daher die **Schüttelbox**, mit der der Anteil einzelner Fraktionen an der Mischung überprüft werden kann. Weitere Möglichkeiten sind die sogenannte **Erbsen- und Bohnenmethode** (nach Dr. Kalayci) oder die Untersuchung von chemischen Parametern, wie **Chlorid als Maßstab für die Verteilung von Viehsalz** in der Mischung. Diese Methoden sind relativ kostengünstig, da Erbsen oder Bohnen ausgezählt werden können und für Chlorid Teststreifen mit Färbereaktion einsetzbar sind. Bei der Erbsen-

und Bohnenmethode wird dem Mischwageninhalt ein Anteil von mindestens 2 % Erbsen oder Bohnen zugesetzt, das entspricht 40 kg bei einer Mischung von 2 t. Anschließend erfolgt der Mischvorgang, der in der Regel etwa 15 bis 20 Minuten dauert. Vor Austrag der Mischung auf den Futtertisch werden entlang der Futterkrippe in gleichmäßigem Abstand 5 bis 10 Kübel platziert, die die Proben aufnehmen sollen. Die in den Proben enthaltenen Erbsen oder Bohnen werden anschließend aus den Proben herausgesiebt und mit dem Ergebnis der Variationskoeffizient errechnet. Dieser sollte bei guten Mischungen einen Wert von 10 % nicht übersteigen.

Sonstige Mischer

Auch für diese Anwendungen können eine Reihe von **chemischen Parametern** herangezogen werden, wie Spurenelemente (Zink, Mangan, Kupfer, etc.), Vitamine, Rohnährstoffe, Harnstoff oder zugesetztes MHA (Hydroxy-Analog von Methionin). Diese Methoden sind aber relativ kostenintensiv, wenn eine für die statistische Auswertung erforderliche Anzahl an Proben von 15 bis 20 eingehalten wird. In der Praxis werden daher gerne **Microtracer** eingesetzt, die einerseits sowohl kostengünstig sind und eine rasche, aussagekräftige Auswertung erlauben als auch den zeitlichen Gesamtaufwand für die Untersuchung in Grenzen halten. Microtracer sind mit Lebensmittelfarbe überzogene Eisenpartikel mit definierter Partikelanzahl je Gramm. Die Partikelanzahl bewegt sich je nach Tracertyp zwischen 25.000 (Microtracer F) und > 2 Mio./g (Microtracer RF). Die Menge an Tracer ist so zu wählen, dass in einer Probenmenge von ca. 200 g etwa 50 Partikel zu erwarten sind. Somit ergibt das im Falle des F-Tracers eine Einsatzmenge von 10 g je Tonne. Der Tracer wird in der Praxis entweder mit Futterkalk oder einem anderen Einzelfuttermittel vorgemischt. Diese Vormischung wird der Mischanlage dort zugesetzt, wo auch die Zugabe von Zusatzstoffen erfolgt. Aus dem Mischernachbehälter oder direkt bei der Absackung werden gleichmäßig über die Charge verteilt 20 Proben gezogen. Der in die Testmischung eingebrachte Tracer wird aus den gezogenen Proben mittels Rotationsmagnet physikalisch extrahiert und die Auswertung erfolgt durch Auszählung der Anzahl der Tracerpartikel, die auf einem mit Wasser oder Lösungsmittel befeuchteten Filterblatt als Farbpunkte sichtbar gemacht werden. Durch rasche Trocknung des Filterblattes werden die Farbpunkte fixiert, bevor sie ineinander laufen. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt nach der Poisson-Verteilung mittels Chi-Quadrat Test. Die dabei errechnete Wahrscheinlichkeit sollte im Falle einer homogenen Mischung über 5 % liegen. Die zu erwartenden Kosten für eine Mischgenauigkeitsuntersuchung mittels Microtracer liegen im Bereich von EUR 500,- (excl. Reisespesen und MwSt.).

Erfahrungen der AGES

Im Zuge der Umsetzung der Anforderungen der Richtlinie 95/69/EG über die Zulassung und Registrierung von Betrieben (Vorgängerregelung zur Futtermittelhygieneverordnung) und nach Recherche zu marktüblichen Methoden wurden die Microtracer als kostengünstige Methode der Wahl festgelegt. Mit 2002 wurden erste Privataufträge zur Mischerprüfung übernommen. 2003 wurde im Auftrag der Landwirtschaftskammer Oberösterreich ein allgemeiner Prüfbericht für den Einsatz von Mischern zur Herstellung von Fütterungsarzneimitteln am landwirtschaftlichen Betrieb im Zuge des Tierarzneimittelkontrollgesetzes erstellt. Im Rahmen dieses Auftrages wurden mehr als 30 Trommel-, Schräg- und Vertikalmischer überprüft. Dieser allgemeine Prüfbericht hat die Eignung der genannten Mischertypen für die Herstellung von Fütterungsarzneimitteln bestätigt und war die Grundlage für die entsprechenden Normtypenblätter.

Nach bisherigen Erfahrungen der AGES ergibt sich, dass Mischanlagen mit einer Vielzahl an Methoden sowohl auf Mischgenauigkeit als auch Verschleppungsausmaß überprüft werden können. Für die Wahl der Methode ist der jeweilige Anwendungsfall und die damit verbundene Fragestellung maßgeblich.

Literatur

Heidenreich, E. (1998): Zugabe von Futterzusatzstoffen und die Gefahr von Verschleppungen. Die Mühle + Mischfüttertechnik, 135. Jahrgang, Heft 10, 7. Mai 1998, Seiten 297-300

Bleyl, D.W.R., Bosshammer, K. (2007): Neue Wege der oralen Medikation - orale Pulver und fahrbare Mahl- und Mischanlagen im Vormarsch. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, 14. Jahrgang, Heft 3/2007, Seiten 201-206

Strickhof: Mischgenauigkeit beim Mischfutterwagen. www.strickhof.ch

MTSE: Micro Tracers Services Europe. www.microtracer.de

Autorenanschrift

Dipl.-Ing. Franz Doppelreiter
Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES)
Institut für Tierernährung und Futtermittel
A-1220 Wien, Spargelfeldstr. 191
E-Mail: franz.doppelreiter@ages.at

Einfluss variierender XP-Versorgung in der Bullenmast auf leberspezifische Enzyme im Blutplasma, Abbauprodukte des Purinstoffwechsels und Morphologie der Pansenwand

Verena S. Aichner¹, Thomas Etle¹ und Wilhelm Windisch²

¹ Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, DE

² Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München, DE

Einleitung

Die derzeit gültige Norm zur Versorgung mit Rohprotein (XP) für Mastbullen in Deutschland von 1995 (GfE, 1995) geht von geringerem Schlachtgewicht aus als heutzutage üblich ist. Aus diesem Grund wurde ein Fütterungsversuch durchgeführt, um den Rohproteinbedarf von Mastbullen neu einzuschätzen (AICHNER et al., 2013). Des Weiteren sollte mit diesem Versuch abgeklärt werden, wie weit die Proteinversorgung in der Mast ohne negative Effekte auf die Leistung abgesenkt werden kann.

Um auch eine Aussage über die physiologischen Situation der Tiere machen zu können wurde in der vorliegenden Arbeit der Stoffwechselstatus der Tiere anhand von Leberenzymen im Blutserum überprüft, Abbauprodukte des Purinstoffwechsels analysiert als auch die Pansenphysiologie untersucht. Der Versuch ist dem Aktionsprogramm "Heimische Eiweißfuttermittel" zugeordnet, welches aus dem bayerischen Regierungsprogramm "Aufbruch Bayern" finanziert wird.

Material und Methoden

Die Studie wurde mit 60 Jungbullen der Rasse Fleckvieh an der bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft an der Versuchsstation in Grub durchgeführt. Die Tiere wurden während des gesamten Versuchs in einem nicht wärmeisolierten Tretmiststall gehalten. Die Jungbullen wurden mit einem Anfangsgewicht von 216 ± 7 kg und einem Anfangsalter von 148 ± 7 Tagen unter Berücksichtigung von Lebendgewicht und Alter gleichmäßig auf fünf Gruppen mit jeweils 12 Tieren verteilt. Der Versuch erstreckte sich über einen Zeitraum von ca. 350 Tagen bis zu einem mittleren Alter von 499 Tagen.

Die Bullen wurden über eine Total Misch Ration (TMR) auf Basis Maissilage (68% TM), Kraftfutter (29% TM) und Gerstenstroh (3% TM) mit einem Energiegehalt von 11,5 MJ ME versorgt. Bis auf den Proteingehalt waren die fünf Rationen bzgl. deren Inhaltsstoffe miteinander vergleichbar. Um eine gestaffelte Proteinversorgung in den Rationen gewährleisten zu können, wurden zwei Kraftfuttermischungen (Kf1: Kraftfutter proteinarm; Kf2: Kraftfutter proteinreich) erstellt. Die Zusammensetzung der Kraftfuttermischungen ist in Tabelle 1 dargestellt. Diese beiden Kraftfutter wurden den Gesamtrationen im Verhältnis 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 und 0:100 beigemischt, sodass eine gestaffelte Proteinversorgung von deutlich unterhalb der Norm in Gruppe 1 (8,3 % XP der TM) bis hin zur Überversorgung in Gruppe 5 (16,4 % XP der TM) erreicht wurde. Die Rohnährstoff- bzw. Energiegehalte der Einzelkomponenten wurden wöchentlich nach Weender analysiert (NAUMANN et al. 1997). Das Futter wurde den Bullen *ad libitum* verabreicht; auch das Wasser stand über Selbsttränken zur freien Verfügung.

Die Lebendmasse der Bullen wurden in einem vierwöchigen Rhythmus ermittelt. In einem 12-wöchigen Turnus wurden Blutproben von allen Tieren gewonnen um diese auf leberspezifische Enzy-

me hin zu analysieren. Das Blut wurde durch Punktion der V. jugularis gewonnen und sofort in eine Serum- und Plasma-Monovette (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) abgefüllt und durch Schwenken homogenisiert. Für die Bestimmung der leberspezifischen Enzyme wurde die Serum-Monovetten umgehend in das Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V. (Grub) zur Analyse gebracht. Die Probengewinnung am Tag der Schlachtung erfolgte im Verlauf des Schlachtvorganges. Nach Betäubung mittels Bolzenschuss und Eröffnung der Halsgefäße durch einen Halsschnitt wurden Serum- und Plasma-Monovetten befüllt. Die untersuchten Parameter waren GLDH (Glutamat-Dehydrogenase), AP (Alkalische Phosphatase) sowie AST (Asparat-Aminotransferase). Die Parameter wurden am Tag der Schlachtung untersucht. Die GLDH wurde zusätzlich auch an den Versuchstagen 0, 70, 152 und 320 analysiert.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Kraftfuttermischungen Kf1 und Kf2

Kraftfutterkomponenten	Kf1 (TM%)	Kf2 (TM%)
Körnermais	10,6	8,7
Sojaöl	3,6	---
Sojaextraktionsschrot	3,6	63,0
Rapsextraktionsschrot	---	22,1
Trockenschnitzel	62,5	---
Weizen	14,2	---
Mineralfutter	5,6	6,2

Für die Untersuchung der Abbauprodukte des Purinstoffwechsels Allantoin und Kreatinin, wurden am 152. Versuchstag und am Tag der Schlachtung Plasmaproben gewonnen und in Anlehnung an eine Arbeit von BALCELLS et al. (1992) hin analysiert.

Um den Pansen auf verschiedene Parameter hin untersuchen zu können, wurde dieser bei der Schlachtung der Tiere im betriebseigenen Schlachthaus in Grub entleert und gewaschen. Hinsichtlich der Morphologie des Pansens wurden die Pansenzottenzahl / cm² unter einer Lichtlupe mit einer Vergrößerung von 1,5 ausgezählt; die Pansenwanddicke (mm) und die Pansenzottenhöhe incl. Pansenwand (mm) wurden mit einer Schublehre vermessen. Hierzu wurden im Bereich des Schleudermagens, dem ventralen Pansensack und dem dorsalen Endblindsack je drei Gewebeproben gewonnen, an denen die Messungen durchgeführt wurden.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistiksoftwarepakets SAS (SAS Institute, Version 9.2, Cary, NC, USA) unter Zugrundelegung einer einfaktoriellem Varianzanalyse. Signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten wurden mit dem Student-Newman-Keuls-Test ($p < 0,05$) ermittelt und mit unterschiedlichen Hochbuchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse und Diskussion

Bei einem überhöhten Proteinangebot in der Ration muss in der Leber der Ammoniak, der in den Vormägen anfällt, zu Harnstoff umgewandelt werden. Es ist bekannt, dass eine hohe Proteinversorgung zu einer akuten und chronischen Belastung der Leber führen kann, die anhand von erhöhten Blutserumwerten von GLDH, AST und AP gemessen werden kann. Die im vorliegenden Versuch untersuchten Blutparameter lagen, in den von KRAFT und DÜRR (2005) angegebenen Referenzbereichen. Die GLDH ist beim Rind ein leberspezifisches Enzym; ihre Aktivität ist innerhalb der Leberläppchen am höchsten. Der Referenzbereich beim Rind geht bis 30 U/l. Vorübergehende Erhöhungen haben keine besondere pathologische Wertigkeit, da die Aktivität der GLDH sehr rasch ansteigt, sich aber auch aufgrund ihrer kurzen Halbwertszeit innerhalb weniger Tage normalisiert. Werte die das Dreifache der oberen Grenze des Referenzbereiches überschreiten, sind ein Maß für eine Leberzellschädigung. In

vorliegender Untersuchung waren die Werte der GLDH vor Versuchsbeginn miteinander vergleichbar; während des Versuchs war die Aktivität der GLDH in der Gruppe mit 8,3% XP in der Ration am höchsten und fiel ab der nächst höheren Proteinstufe wieder ab (Tabelle 2). Bei den Werten am Tag der Schlachtung lagen die beiden Gruppen mit wenig Protein in der Ration tendenziell höher als die restlichen Gruppen (Tabelle 3). Es scheint, dass im vorliegenden Versuch keine Leberbelastung durch die hohen XP-Versorgungen verursacht wurde, aber es deutet darauf hin, dass es bei einer marginalen XP-Versorgung eher zu einer Lebererkrankung kommt.

Die AST kommt ubiquitär im Körper vor. Man findet hohe Aktivitäten in der Herz- und Skelettmuskulatur; in zweiter Linie auch in der Leber. Die AST wird beim Rind als Indikator für Leberkrankheiten herangezogen, wenn Muskelerkrankungen ausgeschlossen werden können (KRAFT und DÜRR, 2005). Die vorliegenden AST-Aktivitäten befanden sich im Referenzbereich und die einzelnen Gruppen unterschieden sich nicht voneinander. Die beobachteten Schwankungen zwischen den Gruppen lässt keine Aussage über die XP-Versorgung zu.

Die AP kommt in fast allen Geweben und Organen vor und wird zur Diagnostik besonders bei Veränderungen der Leber und der Gallengänge herangezogen. Bei Wiederkäuern reagiert die AP erst bei erheblichen Hepatopathien (KRAFT und DÜRR, 20005). Die gemessenen Werte in vorliegender Untersuchung befanden sich im physiologischen Bereich und ließen keinen Zusammenhang zwischen der Proteinzufuhr in der Ration und den AP-Werten im Blutserum erkennen.

Die unauffälligen AST und AP Werte passen demnach auch mit den im physiologischen Bereich liegenden GLDH Werten des Schlachttages zusammen und schließen eine Belastung der Leber durch eine hohe XP-Zufuhr in der Ration aus. Auch bei der Schlachtung konnten keine pathologischen Veränderungen der Leber festgestellt werden, was die Ergebnisse der analysierten Werte unterstreicht.

Tabelle 2: Gehalte der analysierten Parameter im Blut an den Versuchstagen (VT) 0, 70, 152 und 320

Gruppe		1	2	3	4	5
XP-Gehalt	Referenz	8,3%	10,3%	12,3%	14,4%	16,4%
GLDH VT0	< 30 U/l	31,1 ±23	28,2 ±14	30,2 ±13	34,9 ±23	27,1 ±19
GLDH VT70	< 30 U/l	32,4 ±14 ^{a*}	15,3 ±8 ^b	18,9 ±10 ^b	16,5 ±5 ^b	16,6 ±5 ^b
GLDH VT152	< 30 U/l	67,2 ±60 ^a	28,0 ±24 ^b	15,3 ±8 ^b	18,6 ±8 ^b	15,3 ±6 ^b
GLDH VT320	< 30 U/l	27,7 ±18 ^a	18,8 ±15 ^{a,b}	9,5 ±3 ^b	11,8 ±3 ^b	12,6 ±4 ^b

Tabelle 3: Gehalte der analysierten Parameter im Blut am Tag der Schlachtung

Gruppe		1	2	3	4	5
XP-Gehalt	Referenz	8,3%	10,3%	12,3%	14,4%	16,4%
AP	< 300 U/l	252,8 ±59	291,3 ±93	194,4 ±42	225,9 ±99	221,0 ±106
AST	< 102 U/l	90,4 ±11	93,1 ±12	86,4 ±18	91,2 ±12	87,2 ±10
GLDH	< 30 U/l	21,0 ±10 ^{A*}	21,1 ±20 ^A	12,5 ±5 ^B	11,1 ±2 ^B	12,3 ±3 ^B

*) verschiedene Großbuchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen tendenzielle Unterschiede ($p < 0,06$)

Das harnfähige Ausscheidungsprodukt des Aminosäuren-N ist Allantoin, welches beim oxidativen Abbau aus Harnsäure gebildet wird. Mit Allantoin lässt sich somit die Bildung von Bakterienprotein abschätzen, da es zum größten Teil beim Abbau der Nukleinsäuren der Mikroben aus dem Verdauungstrakt entsteht (SMITH, 1969). Der Gehalt an Allantoin sank in vorliegender Untersuchung mit zunehmender XP-Versorgung ab. Bei der Schlachtung war ein gesichertes Maximum bei 10,3% XP zu verzeichnen; bei höheren XP-Gehalten fand ein Rückgang statt (Tabelle 4). Die höheren Allantoin Werte bei den Gruppen mit niedriger XP-Zufuhr deuten darauf hin, dass mehr Bakterienprotein in diesen Gruppen gebildet wurde, als in den höher versorgten Gruppen. Der in der vorliegenden Arbeit gefundene Anstieg von Allantoin bei niedrigen XP-Gehalten wurde auch in einer Arbeit von KREUZER

et al. (1985) mit Hammeln in Harn beschrieben. Es scheint, dass bei den marginal versorgten Gruppen eine effizientere Stickstoffausbeute erfolgt ist und dass bei diesen Gruppen auch eine enorme Wiederverwertung des Stickstoffs stattgefunden haben muss.

Kreatinin ist ein Produkt des endogenen Muskelstoffwechsels. Wie viel Kreatinin täglich gebildet wird, hängt im Wesentlichen vom Gehalt an Kreatin im Körper ab. Dieser Gehalt wird durch die Syntheserate und die Muskelmasse bestimmt; muskelkräftigere Individuen haben stets höhere Kreatininwerte (FINCO, 1997). Die Kreatininwerte während des Versuches unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht. Bei Versuchsende stiegen die Kreatininwerte mit zunehmender XP-Versorgung an und erreichte ein Maximum bei der Gruppe mit 14,4% XP und fielen anschließend signifikant ab. Dies lässt darauf schließen, dass die Tiere in der Gruppe mit 14,4% XP die höchste Muskelmasse aufwiesen, was sich mit den Ergebnissen der Mastleitung dieses Versuches deckt (AICHNER et al., 2013). Dass die Nährstoffversorgung keinen erkennbaren Einfluss auf die Kreatininwerte im Laufe des Versuches haben, kann auch daher kommen, dass sich bei wachsenden Tieren die Variation der Abbaurates der Muskulatur weniger auf den gesamten Stoffwechsel auswirkt als bei bereits ausgewachsenen Tieren (WINDISCH et al., 1995). LUMSDEN et al. (1980) zufolge nehmen die Gehalte an Kreatinin bei gesunden Rindern mit zunehmendem Alter zu, was auch in diesem Versuch beobachtet werden konnte.

Tabelle 4: Werte der Abbauprodukte des Purinstoffwechsels am 152. Versuchstag (VT152) und am Tag der Schlachtung (ST) in µg/ml

Gruppe	1	2	3	4	5
XP-Gehalt	8,3%	10,3%	12,3%	14,4%	16,4%
Allantoin VT152	32,2 ±5,6 ^{a)}	30,4 ±5,1 ^{a,b}	25,4 ±3,0 ^{b,c}	27,3 ±4,8 ^{a,b,c}	24,5 ±6,9 ^c
Allantoin ST	21,3 ±3,5 ^{a,b}	23,3 ±4,3 ^a	19,2 ±4,2 ^b	18,5 ±3,2 ^b	18,1 ±2,0 ^b
Kreatinin VT152	14,4 ±2,3	15,5 ±1,5	14,3 ±1,2	14,5 ±1,4	13,8 ±1,8
Kreatinin ST	19,8 ±3,2 ^{a,b}	20,2 ±2,4 ^{a,b}	21,5 2,3 ^a	22,2 ±3,1 ^a	17,7 ±2,7 ^b

Tabelle 5: Parameter zur Beurteilung der Morphologie des Pansens

Gruppe	1	2	3	4	5
XP-Gehalt	8,3%	10,3%	12,3%	14,4%	16,4%
Schleudermagen					
PWD mm	5,7 ±1	5,7 ±1	5,0 ±1	5,5 ±1	5,7 ±1
PZH mm	19,0 ±4	20,2 ±4	21,6 ±2	20,6 ±5	21,5 ±4
PZZ / cm ²	28,2 ±5	25,6 ±4	22,6 ±7	21,8 ±6	22,0 ±6
ventraler Pansensack					
PWD mm	5,9 ±1	6,3 ±1	6,2 ±1	5,9 ±1	6,6 ±2
PZH mm	12,3 ±4	14,2 ±4	14,8 ±3	15,3 ±4	14,8 ±3
PZZ / cm ²	30,2 ±11	29,4 ±10	26,4 ±7	27,5 ±6	26,7 ±7
dorsaler Endblindsack					
PWD mm	5,6 ±1	5,6 ±1	5,7 ±1	5,4 ±1	5,8 ±1
PZH mm	11,3 ±2	10,9 ±2	11,0 ±2	11,7 ±5	12,0 ±2
PZZ / cm ²	34,9 ±10	25,8 ±7	27,5 ±9	28,4 ±7	29,7 ±6

Die Schleimhaut des Pansens ist mit Pansenzotten besetzt. Aufgrund der Zotten wird die Oberfläche des Pansens enorm vergrößert und bietet so eine verbesserte Absorption der Stoffwechselprodukte. Je nach Pansenregion lassen sich unterschiedliche Zottentypen finden. SCHNORR und VOLLMERHAUS (1967) berechneten für den Pansen von Rindern circa 250000 Hauptzotten, mit einer Besatzdichte von durchschnittlich 10 bis 60 Zotten pro cm²; die Höhe wird in der Literatur mit bis zu 13 mm angegeben (HOFFMANN und SCHNORR, 1982). In der vorliegenden Untersuchung konnten hinsichtlich der Pansenwanddicke (PWD), Pansenzottenhöhe incl. Pansenwand (PZH) und Pansenzottenzahl (PZZ), keine signifikanten Unterschiede in den drei Regionen Schleudermagen, ventraler Pansensack und dorsaler Endblindsack zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen festgestellt werden (Tabelle 5). Allerdings

ist zu beachten, dass die marginal versorgte Gruppe tendenziell mehr Zotten pro cm² hatte, als die höher versorgten Gruppen. Dies könnte damit erklärt werden, dass diese Gruppe, durch Vergrößerung der Pansenoberfläche, versucht eine höhere Absorption der Stoffwechselprodukte zu erreichen. Die Zottenlänge als auch die Zottenzahl stimmte weitestgehend mit denen der Literatur überein. Es scheint, dass bei Versuchsbeginn der Pansen schon so weit entwickelt war, dass die Proteinversorgung kaum mehr einen Einfluss auf die Zottenbildung gehabt hat. Es scheint als ob das Gewicht der Tiere mit der Höhe der Zotten korreliert; die Anzahl der Zotten weist hingegen eine negative Korrelation zum Gewicht auf.

Schlussfolgerung

Die Proteinversorgung in der vorliegenden Arbeit hat keinen Effekt auf die leberspezifischen Enzyme am Tag der Schlachtung gezeigt. Die Werte der gemessenen Parameter GLDH, AST und AP lagen im physiologischen Bereich. Bei dem Abbauprodukt Allantoin konnten höhere Gehalte in den marginal versorgten Gruppen festgestellt werden, was auf eine bessere Stickstoffausnutzung und eine effektivere Wiederverwertung an Stickstoff hindeutet. Die Kreatininwerte erreichten ein Maximum bei der Gruppe mit dem höchsten Schlachtgewicht, was darauf deuten lässt, dass diese Tiere auch die muskelkräftigsten Individuen waren. Dieser Versuch zeigte, dass die Proteinversorgung keinen wesentlichen Einfluss auf die Morphologie des Pansens hat.

Literatur

- AICHNER V.S., ETTLE T., OBERMAIER A., SPIKERS H. und WINDISCH W. (2013): Effects of a varying crude protein supply on fattening performance of Simmental bulls. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 22, (im Druck)
- BALCELLS J., GUADA J.A., PEIRÓ J.M. and PARKER D.S. (1992): simultaneous determination of allantoin and oxypurines in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 575, 153-157
- FINCO D. R. (1997): Kidney function. In: KANEKO J. J., HARVEY J. W., BRUSS M. L. (Hrsg.): *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5. Aufl., Academic Press, San Diego u. a., 441-484
- GFE (1995): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Mastrinder. Frankfurt (Main). DLG-Verlag, Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere; Nr. 6
- HOFFMANN und SCHNORR (1982): Die funktionelle Morphologie des Wiederkäuermagens. Ferd. Enke, Stuttgart
- KRAFT W. und DÜRR U.M. (2005): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart
- KREUZER M., KIRCHGESSNER M., KELLNER R.J. und ROTH F.X. (1985): Nährstoffverdaulichkeit, N-Stoffwechsel und Allantoinausscheidung von Hammeln bei Variation der Protein- und Energiekonzentration. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 55, 144-159
- LUMSDEN J.H., MULLEN K. und ROWE R. (1980): Hematology and biochemistry reference values for female Holstein cattle. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 44, 23-31
- NAUMANN C., BASSLER R., SEIBOLD R., und BARTH C. (1997): Methodenbuch, Band 3: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- SCHNORR B. und VOLLMERHAUS B. (1976): Das Oberflächenrelief der Pansenschleimhaut bei Rind und Ziege. (Erste Mitteilung zur funktionellen Morphologie der Vormägen der Hauswiederkäuer). *Zbl. Vet. Med., A*, 14, 93-104
- SMITH R. H. (1969): Nitrogen metabolism and the rumen. *J. Dairy Res.* 36, 313-331
- WINDISCH W., KIRCHGESSNER M. und EDER K. (1995): 3-Methyl-Histidin und Kreatinin im Harn laktierender Milchkühe während und nach einer Unterversorgung an Protein und Energie. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 74, 274-280

Autorenanschrift

M. Sc. (TUM) Verena Sarah Aichner
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
Professor-Dürrwaechter-Platz 3; D-85586 Grub
E-Mail: verena.aichner@lfl.bayern.de

Einsatz von Leinextraktionsschrot in der Aufzucht weiblicher Fresserkälber

Thomas Ettle und Anton Obermaier

Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, DE

Einleitung

Praxisübliche Kraftfutter für Fresserkälber enthalten häufig Leinextraktionsschrote oder -kuchen, wobei Anteile von 10-15 % am Kraftfutter üblich sind. Neben dem hohen Proteingehalt ist eine Begründung für die Verwendung von Leinprodukten eine mögliche diätetische Wirkung, die besonders bei Jungtieren Durchfallerkrankungen vorbeugen soll. Andererseits stellen teure Leinprodukte einen bedeutenden Kostenfaktor für die Kraftfuttermischungen dar. In einem früheren Versuch konnten bei teilweisem Ersatz von Rapsextraktionsschrot durch Leinextraktionsschrot im Kraftfutter für männliche Fresserkälber keine Auswirkungen auf Futteraufnahme, Zuwachsleistung oder Erkrankungen festgestellt werden (Ettle und Obermaier, 2012). In vorliegender Arbeit sollte überprüft werden, ob sich bei weiblichen Fresserkälbern nach Einsatz von 15 % Leinextraktionsschrot im Kraftfutter messbare Effekte auf Futteraufnahme, Mastleistung und Durchfallgeschehen ergeben.

Material und Methoden

Der Fütterungsversuch wurde mit 62 weiblichen Fleckviehtieren auf der Versuchsstation Karolinenfeld der Bayer. Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) über einen Zeitraum von 16 Wochen hinweg durchgeführt. Die Tiere waren zu Versuchsbeginn im Mittel 44 ± 10 Tage alt und 77 ± 6 kg schwer. Sie wurden unter Berücksichtigung von Lebendmasse und Alter gleichmäßig auf zwei Versuchsgruppen (Rapsextraktionsschrot und Leinextraktionsschrot) aufgeteilt. Ein Teil der Tiere (21 je Versuchsgruppe) war getrennt nach Versuchsgruppe in 2 Tiefstreubuchten in einem Warmstall untergebracht, die übrigen Tiere in 2 Tiefstreubuchten in einem Aussenklimastall.

Das Kraftfutter der Versuchsgruppe 1 enthielt als Hauptproteinträger 35 % Rapsextraktionsschrot (Tabelle 1). Im Kraftfutter der Versuchsgruppe 2 wurden 15 % Leinextraktionsschrot und 20 % Rapsextraktionsschrot eingesetzt. Rechnerisch ergab sich für beide Kraftfutter ein Rohproteingehalt von 19 % bei einem Energiegehalt von 10,9 MJ ME/kg Futter. Die Rohnährstoff- und Energiegehalte der Extraktionsschrote sind in Tabelle 2 dargestellt.

Neben der TMR wurde in den ersten 42 Versuchstagen Milchaustauschertränke (MAT mit 40 % Magermilchpulveranteil, 130 g/l Tränke, angestrebte MAT-Aufwandmenge 30 kg/Tier) am Tränkeautomaten nach Plan angeboten.

Die Futteraufnahme wurde täglich je Futtergruppe erfasst. Von den TMR wurden wöchentliche Mischproben erstellt und daran die Rohnährstoff- bzw. Energiegehalte nach Weender analysiert (Naumann et al., 1997) bzw. mit dem Programm „Zifo“ unter Nutzung der hinterlegten Verdaulichkeiten berechnet. Die Energie- und Rohnährstoffversorgung wurde aus den täglich ermittelten TMR- und MAT-Aufnahmen und deren Rohnährstoffgehalten errechnet. Die Lebendmasse der Tiere wurde alle 2 Wochen festgestellt und daraus die Tageszunahmen errechnet. Darüber hinaus wurde festgehalten, wie häufig Durchfall bei den Tieren auftrat. Die Schwere des Durchfalls wurde mit einer Skala von 1 bis 3

bewertet. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programmpaket SAS (Varianzanalyse, Mittelwertsvergleich).

Tabelle 1: Zusammensetzung der Kraftfuttermischungen (%)

	Versuchsgruppe	
	Rapsextraktionsschrot	Leinextraktionsschrot
Gerste	25,1	25,1
Weizen	26,6	26,6
Leinextraktionsschrot	0,0	15,0
Rapsextraktionsschrot	35,2	20,2
Trockenschnitzel	10,3	10,3
Mineralfutter	2,8	2,8

Tabelle 2: Roh Nährstoff- und Energiegehalte des Lein- und Rapsextraktionsschrotes

	XA	XP	XL	XF	ME
	% der TM				MJ/kg TM
Leinextraktionsschrot	63,1	400	57	96	12,5
Rapsextraktionsschrot	72,7	396	43	142	12,0

Tabelle 3: Roh Nährstoff- und Energiegehalte der TMR (n=16 je Gruppe)

	TM	XA	XP	XL	XF	ME
	g/kg	g/kg TM				MJ/kg TM
TMR Leinextraktionsschrot	656	50	139	24	179	11,1
TMR Rapsextraktionsschrot	659	50	136	22	177	11,1

Ergebnisse und Diskussion

Die Futteraufnahme lag während der Tränkephase in der Gruppe Rapsextraktionsschrot niedriger als in der Gruppe Leinextraktionsschrot (Tabelle 4).

Dies ist hauptsächlich durch einen unvollständigen Abruf an Tränke in der Rapsgruppe begründet (durchschnittlich 5 l/Tag gegenüber 5,8 l in der Leinextraktionsschrotgruppe). Dadurch ergibt sich auch eine verringerte Aufnahme an Energie und Rohprotein in der Rapsgruppe während der Tränkephase. Diese Unterschiede traten bereits in den ersten Tagen auf (Abbildung 1), in denen nur eine geringe Aufnahme an Kraftfutter bzw. Lein- oder Rapsextraktionsschrot zu verzeichnen war. Daher scheinen die Unterschiede eher zufällig und nicht durch die unterschiedlichen Proteinträger bedingt zu sein. In der Phase nach dem Absetzen bis Versuchsende traten nur noch geringe Unterschiede in der Futteraufnahme und Nährstoffversorgung auf, so dass sich auch im Mittel des gesamten Versuchszeitraumes kaum mehr Gruppenunterschiede errechnen.

Die Unterschiede in der Nährstoffversorgung spiegeln sich auch in den Zuwachsleistungen wider. Während der Tränkephase hatten die Tiere in der Leinschrotgruppe annähernd 100 g höhere tägliche Zunahmen als die Tiere in der Rapsextraktionsschrotgruppe (Tabelle 5). Nach der Tränkephase und über den gesamten Versuchszeitraum hinweg betrachtet waren die Zuwachsraten zwischen den beiden Gruppen aber annähernd gleich. Insgesamt lagen die täglichen Zunahmen mit knapp über 1100 g/Tier niedriger als in den zuletzt durchgeführten Untersuchungen mit männlichen Fresserkälbern (z.B. Ettle et al., 2010a, b; Ettle und Obermaier, 2012). Neben dem Geschlecht könnte ein Grund sein, dass vorliegender Versuch bei einem relativ niedrigen Proteinversorgungsniveau durchgeführt wurde, um eventuelle Unterschiede zwischen den Proteinträgern besser herausarbeiten zu können.

Aus der Nährstoffzusammensetzung von Leinextraktionsschrot und anderen Leinprodukten ergeben sich mehrere Gründe, die für einen Einsatz in der Fütterung sprechen. Die Produkte der Ölgewinnung aus Lein sind zunächst durch die hohen Proteingehalte gekennzeichnet, die mit denen von Rapsextraktionsschrot vergleichbar sind. Bezüglich der Proteinqualität lassen sich allerdings keine Vorteile des Leinproteins im Vergleich zu Sojaprotein ableiten (Burriss et al., 1974a, b). Auf Grund des hohen Preises von Leinextraktionsschrot erscheint dementsprechend der Einsatz in der Wiederkäuerfütterung allein wegen des Proteingehaltes fraglich, solange Alternativen wie Raps- oder Sojaextraktionsschrot verfügbar sind.

Tabelle 4: Tägliche Futter-, ME- und XP- Aufnahme je Tier in den Versuchsabschnitten

	Versuchsgruppe	
	Rapsextraktionsschrot	Leinextraktionsschrot
Tränkephase		
TM-Aufnahme (kg)	1,47	1,55
ME-Aufnahme (MJ)	19,5	21,0
XP-Aufnahme (g)	249	269
Absetzen-Versuchsende		
TM-Aufnahme (kg)	4,39	4,34
ME-Aufnahme (MJ)	49,5	48,9
XP-Aufnahme (g)	601	602
Gesamter Versuch		
TM-Aufnahme (kg)	3,28	3,28
ME-Aufnahme (MJ)	38,2	38,3
XP-Aufnahme (g)	468	476

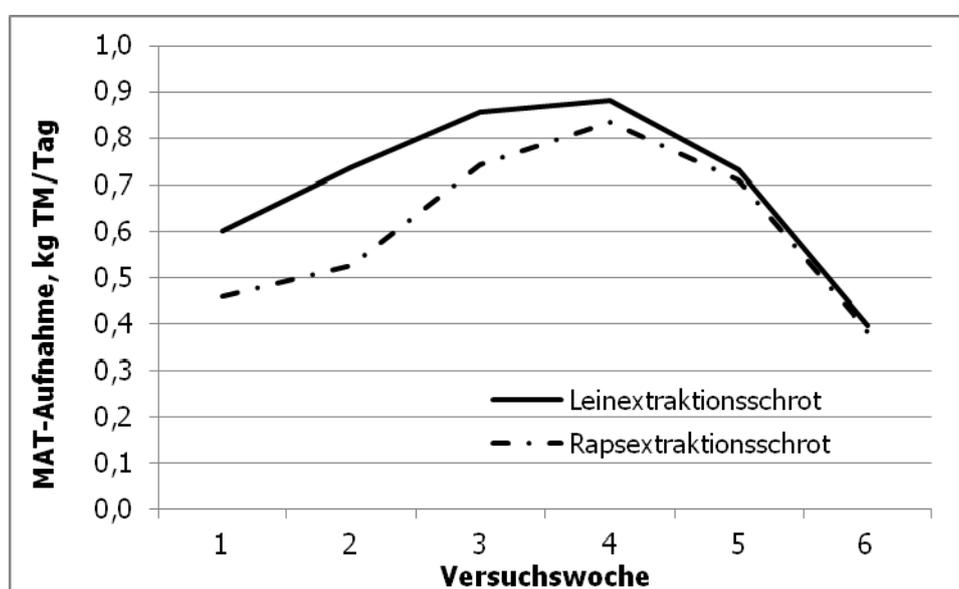


Abbildung 1: Aufnahme an MAT (kg TM/Tier, d) im Versuchsverlauf

Tabelle 5: Gewichtsentwicklung und tägliche Zunahmen

	Versuchsgruppe	
	Rapsextraktionsschrot	Leinextraktionsschrot
Lebendmasse (kg)		
Beginn	77 ±6	77±6
Absetzen	108±10	112±10
Ende	200±13	203±17
Tägliche Zunahmen (g)		
Tränkephase	766±158 ^b	863±129 ^a
nach Absetzen	1317±123	1294±155
gesamter Versuch	1115±104	1137±119

Verschiedentlich wird Leinsaat in der Rindermast allein wegen seines hohen Fettgehaltes (ca. 40 %) zur Steigerung der Energiekonzentration der Rationen diskutiert (Maddock et al., 2006). In vorliegender Arbeit wurde entsprechend der Fütterungspraxis beim Fresser Leinextraktionsschrot eingesetzt. Der Fettgehalt von etwa 6 % der TM liegt zwar höher als beim Rapsextraktionsschrot und ein gezielter Ausgleich der Fettgehalte in den Kraftfuttern wurde nicht vorgenommen. Auf den Fettgehalt der Gesamtration ergeben sich allerdings kaum Auswirkungen (Tabelle 3), so dass in dieser Hinsicht keine Einflüsse auf die Leistung zu erwarten waren.

Im Leinöl sind hohe Mengen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren enthalten. Insbesondere der hohe Gehalt an Omega-3-Fettsäuren könnte sich positiv auf den Gesundheits- und Immunstatus auswirken, wobei sich im Vergleich von Lein- und Sojaöl auch positive Effekte auf die Mastleistung beim Rind ableiten lassen (Farran et al., 2008). Da in vorliegender Untersuchung die Fettlieferung aus dem Leinextraktionsschrot insgesamt sehr gering war ist jedoch erklärbar, dass entsprechende positive Effekte auf die Leistung nicht ersichtlich waren.

In Lein- und Leinprodukten sind Schleimstoffe enthalten (Sterr, 2004), weswegen Leinsamen beim Menschen auch bei Reizzuständen des Verdauungstraktes zum Einsatz kommen. Mögliche positive Auswirkungen auf die Verdauung dürften auch ein Grund sein, dass in der Praxis eingesetzte Kraftfuttermischungen für Fresserkälber häufig Leinextraktionsschrote oder -kuchen enthalten. Aus diesem Grund wurde in vorliegender Arbeit auch das Auftreten von Durchfallerscheinungen evaluiert. In der Gruppe Leinextraktionsschrot wurde bei 5 Tieren mittelschwerer bis schwerer Durchfall beobachtet, in der Gruppe Rapsextraktionsschrot wurde nur bei einem Tier Durchfall beobachtet, der als mittelschwer eingestuft wurde. Bei einem insgesamt guten Gesundheitsstatus ergeben sich daher keine Hinweise auf eine Verringerung der Durchfallhäufigkeit und -schwere durch das Verfüttern von Leinextraktionsschrot.

Fazit

Aus vorliegendem Versuch ergeben sich keine Hinweise, dass sich bei Ersatz von 15 % Rapsextraktionsschrot durch Leinextraktionsschrot im Kraftfutter für weibliche Fresserkälber höhere Endgewichte und Zuwachsraten oder ein besserer Gesundheitsstatus erzielen lassen. Diese Ergebnisse decken sich mit einer früheren Untersuchung bei männlichen Fresserkälbern. Bezüglich der Proteinlieferung sind Lein- und Rapsextraktionsschrot als gleichwertig einzustufen. Der Einsatz von Leinextraktionsschrot in der Aufzucht von Fresserkälbern ist dementsprechend nur zu empfehlen, wenn der Leinextraktionsschrot nicht teurer als Rapsextraktionsschrot ist.

Literatur

- Burris, W.R., Boling, J.A., Bradley, N.W. (1974a): Amino acid availability of isolated rumen microbes as affected by protein supplement. *J. Anim. Sci.* 38, 200
- Burris, W.R., Boling, J.A., Bradley, N.W., Ludwick, R.L. (1974b): Preformed protein sources in steer finishing rations. *J. Anim. Sci.* 39, 818-823
- Ettle, T., Obermaier, A. (2012): Einsatz von Leinextraktionsschrot in der Fresseraufzucht. In: Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda 2012, Herausgeber: Verband der Landwirtschaftskammern, Bonn, 53-56
- Ettle, T., Obermaier, A., Danier, J., Spiekens, H. (2010a): Zum Einsatz von Weizenschlempe mit Lysinergänzung in der Fresseraufzucht. *VDLUFA-Schriftenreihe* 66, 714-720
- Ettle, T., Obermaier, A., Schuster, H. (2010b): Vergleich zweier Fütterungsstrategien in der Fresseraufzucht. In: Tagungsband 9. BOKU-Symposium Tierernährung, 300-305.
- Farran, T.B., Reinhardt, C.D., Blasi, D.A., Minton, J.E., Elsasser, T.H., Higgins, J.J., Drouillard, J.S. (2008): Source of dietary lipid may modify the immune response in stressed feeder cattle. *J. Anim. Sci.* 86, 1382-1394
- Maddock, T.D., Bauer, M.L., Koch, K.B., Anderson, V.L., Maddock, R.J., Barcelo-Coblijn, G., Murphy, E.J., Lardy, G.P. (2006): Effect of processing flax in beeflot diets on performance, carcass characteristics, and trained sensory panel ratings. *J. Anim. Sci.* 84, 1544-1551
- Naumann, C., Bassler, R., Seibold, R., Barth, C. (1997): Methodenbuch, Band 3: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. *VDLUFA-Verlag, Darmstadt*
- Sterr, S. (2004): Leinkuchen und Leinschrote in der Jungtierfütterung. *VeredlungsProduktion* 2/2004, 41

Autorenanschrift

Thomas Ettle
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub
Prof.-Dürrwaechter-Platz 3, D-85586 Poing
E-Mail: thomas.ettle@lfl.bayern.de

AGRANA. DER NATÜRLICHE MEHRWERT.



ALLE GVO-FREI.GROSSTEILS AUCH IN BIO-QUALITÄT.ACTIPROT AUCH FÜR HEUMILCH-PRODUZENTEN.ALLE MADE IN AUSTRIA.

AGRANA -
größter Einzelfuttermittelproduzent
ÖSTERREICHs!

WWW.AGRANA.COM



Anteil unterschiedlicher N-Verbindungen in der Auswaschfraktion von Wiederkäuerfuttermitteln bei Verwendung verschiedener Maschenweiten

Gerhard Lindner und Karl Schedle

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

Einleitung

Die Versorgung eines Wiederkäuers mit nutzbarem Rohprotein erfolgt einerseits mit dem durch die Pansenmikroben aufgebauten Protein und andererseits durch das nicht abgebaute Futterprotein. Da die Kapazität der Proteinbildung im Pansen begrenzt ist, steigt bei steigender Milchleistung die Bedeutung des nicht abgebauten Futterproteins (UDP). Aus diesem Grund kommt einer exakten Schätzung der ruminalen Abbaubarkeit große Bedeutung zu.

Diese Pansenabbaubarkeit kann unter anderem mit der Nylonbeutel Methode (= in situ Methode) erhoben und dann in vielen Proteinbewertungssystemen verwendet werden. Bei der genannten Methode treten jedoch Auswaschungsverluste aus den Nylonbeuteln auf, durch die die Abbaubarkeit überschätzt wird. Diese Fraktion kann zum Beispiel aus löslichem Protein sowie Protein der feinen Futterbestandteile, die nicht vollständig abbaubar sind, bestehen. Somit trägt diese Fraktion auch zum UDP bei (Gierus et al. 2005). Die Auswaschungsverluste aus den Beuteln werden als vollständig abbaubar angenommen (Ørskov, 1992). Zudem werden bei der in situ Methode die verschiedenen Stickstoffverbindungen in der Auswaschfraktion nicht berücksichtigt (Gierus et al. 2005).

Wird diese Methode standardisiert verwendet, müssen die Faktoren Porengröße der Beutel, das Verhältnis von Probenmasse zur Beuteloberfläche, die Partikelgröße des Probenmaterials, die Platzierung der Beutel im Pansen, die Ration und der Grad der bakteriellen Rückstände im Beutelinhalt berücksichtigt werden (Stern et al. 1994).

Da bei der Bestimmung der ruminalen Abbaubarkeit von Rohprotein mit der Nylonbeutel Methode Auswaschungsverluste auftreten, deren Stickstoffbestandteile nicht erhoben werden und bei vielen Studien unterschiedliche Maschenweiten der Nylonbeuteln verwendet werden, soll die vorliegende Studie klären, aus welchen Stickstoffverbindungen die Auswaschfraktionen bestehen und welchen Einfluss zwei verschiedene Porengrößen der Nylonbeutel auf die Höhe und Zusammensetzung der Auswaschfraktionen haben.

Material und Methoden

Für die Analysen wurden acht Futtermittel (Sojaextraktionsschrot aus geschälter Saat (SES 44), Sojaextraktionsschrot aus ungeschälter Saat (SES 48), Bio-Sojakuchen (BSK), Luzernepellets (LZ), Rapsextraktionsschrot (RES), Actiprot® (AP in Pellets), Grassilage (GS) und Maissilage (MS) herangezogen. Die Silagen wurden nach der Entnahme aus dem Silo bis zur Analyse tiefgefroren. Die Trockenmasse- und Proteingehalte der Futtermittel wurden nach der Methode von Naumann und Bassler (2012) ermittelt. Die Erhebung der Auswaschfraktionen erfolgte nach der Methode von Gierus et al. (2005).

Für den Filtrationsprozess wurden die Kraftfuttermittel in unbehandelter Form verwendet. Bei den Silagen fand die Vortrocknung bei 50 °C im Trockenschrank und die Mahlung mit der Labormühle durch ein zwei Millimeter-Sieb statt. Sämtliche Futtermittel, in behandelter und unbehandelter Form, wurden vakuumverpackt bei Raumtemperatur gelagert.

Für die Filtration wurden zirka 3,5 g der Futtermittel in ein 250 ml Becherglas eingewogen. Danach weichten diese in 25 ml destilliertem Wasser eine Stunde ein. Aufgrund der sperrigen Struktur der Grassilage wurden hier 35 ml verwendet. Dieser Vorgang fand unter konstantem Schütteln bei 160 Upm statt. Ein 50 ml Messzylinder wurde auf 50 ml (40 ml bei Grassilage) mit destilliertem Wasser aufgefüllt um im gesamten Prozess 75 ml Wasser für die Filtration zu verwenden. Nach dem Schütteln wurde das eingeweichte Futter in Trichter mit Filtergewebe (41 µm Maschenweite, SEFAR NITEX 03-41/31 und 50 µm Maschenweite, SEFAR NITEX 03-50/31) geleert und in 50 ml Falcon-Tubes gesammelt. Um alle Futterbestandteile aus dem Becherglas zu bekommen, musste das Wasser aus dem Messzylinder in 10 ml-Mengen in das Becherglas geleert werden. Vor der Wiegung und N-Bestimmung wurde der Rückstand (RS) samt Filtergewebe bei 70 °C im Trockenschrank getrocknet.

Im Anschluss musste das Filtrat in die drei Fraktionen feine nicht lösliche Bestandteile (NL), Trichloressigsäure (TCA)-ausfällbares Protein (TP) und lösliche NPN Verbindungen (NPN) unterteilt werden.

Zur Ermittlung der NL-Fraktion wurde das Filtrat bei 1500 x g für 20 Minuten bei 20 °C zentrifugiert und der Überstand in weitere Falcon-Tubes überführt. Zur Wiegung und N-Bestimmung erfolgte die Trocknung dieser Fraktion bei 70 °C.

Um die TP-Fraktion zu bestimmen, erfolgte die Fällung mit einer Lösung von 1000 g/l TCA. Zur Fällung des gesamten Proteins, war eine Konzentration von 100 g/l in den Tubes erforderlich. Zur besseren Ausfällung waren die Röhrchen zu schütteln und anschließend zwei Stunden bei 4 °C im Kühlschrank zur Fällung zu belassen. Um das ausgefallene Protein von der flüssigen Phase zu trennen, erfolgte nun eine Zentrifugation für 20 Minuten bei 1500 x g und 4 °C. Unmittelbar danach wurde der flüssige Überstand in 100 ml Messkolben überführt und die Tubes bei 70 °C in den Trockenschrank gegeben. Die Wiegung und Stickstoffbestimmung des ausgefallenen Proteins erfolgte nach einer Trocknungszeit von 36 bis 48 Stunden.

Der Überstand nach der Fällung des Proteins stellt den löslichen nicht-Protein-Stickstoff dar, der nicht TCA ausfällbar ist (Gierus et al. 2005). Es erfolgte eine Auffüllung der mit dem Überstand gefüllten Messkolben mit destilliertem Wasser auf 100 ml. Bis zur Stickstoffanalyse wurden diese Kolben bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. Die Durchführung der Stickstoffanalyse erfolgte als Doppelbestimmung, wobei pro Kjeldahlkolben 10 ml des Messkolbeninhalts Verwendung fanden.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SAS Version 9.1. Zum Vergleich des Effekts der beiden Maschenweiten auf die Fraktionen der einzelnen Futtermittel erfolgte ein T-Test zum globalen Niveau $\alpha = 0,05$. Der Effekt der Maschenweite auf die Mittelwerte der Fraktionen aller Futtermittel wurde ebenfalls mit dieser Prozedur ausgewertet. Für den Unterschied der Fraktionen zwischen den Futtermitteln ohne Berücksichtigung der Maschenweite wurde eine Varianzanalyse und ein Tukey-Test mit der Prozedur GLM zum globalen Niveau $\alpha = 0,05$ durchgeführt. Ein $\alpha < 0,1$ wurde als statistischer Trend angesehen.

Ergebnisse

Wird der Einfluss der beiden Maschenweiten auf die Mittelwerte der Fraktionen aller Futtermittel in Tabelle 1 betrachtet, kann kein signifikanter Unterschied zwischen den Maschenweiten festgestellt werden ($p \geq 0,1$).

Tabelle 1: Vergleich der Maschenweiten über alle Futtermittel (Fraktionen in % der Trockenmasse- bzw. Stickstoffeinwaage; AW= Einwaage-RS)

	Fraktion	41 µm [%]	50 µm [%]	SEM	P-Wert
Trocken- masse	RS	71,4	71,0	0,006	0,702
	NL	2,8	3,4	0,003	0,328
	TP	3,3	3,6	0,003	0,553
	NPN	22,2	22,1	0,008	0,932
	AW	28,6	29,0	0,006	0,702
Stickstoff	RS	75,0	74,0	0,019	0,786
	NL	2,5	3,1	0,002	0,243
	TP	2,8	2,4	0,004	0,668
	NPN	22,2	21,5	0,018	0,860
	AW	25,0	26,0	0,019	0,786

Den Vergleich der einzelnen Fraktionen zwischen den einzelnen Futtermitteln zeigt Tabelle 2. Es ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Futtermitteln bei allen Fraktionen ($p \leq 0,05$). Der Anteil des Rückstandes (RS) erreichte 61,6 % bei GS bis 75,8 % bei RES. RES und SES 44 wiesen die geringsten Auswaschungsverluste auf, GS mit 38,4 % die höchsten.

Die NL-Fraktion stellt einen nicht zu vernachlässigbaren Anteil an der Masse der Auswaschfraktion dar. Diese Fraktion war mit 10,4 % an der Futtermittleinwaage bei MS am größten. Auch bei GS und LZ war diese Fraktion beträchtlich und betrug im Mittel 10,0 % der Auswaschfraktion.

Die Masse des TCA-ausfällbaren Proteins der typischen Proteinfuttermitteln (RES, BSK, SES 48, SES 44) war höher verglichen mit den rohfaserreichereren Futtermitteln (LZ, GS, MS). Bei RES und BSK betrug die Fraktion im Mittel 7,0 % an der Futtermittleinwaage. Den geringsten Anteil von TP an der Futtereinwaage wiesen GS und MS mit im Mittel 0,8 % auf.

Der Anteil der NPN-Verbindungen an der Futtereinwaage war bei GS mit 34,5 %, gefolgt von AP und LZ mit 25,4 %, am höchsten.

Tabelle 2: Trockenmassen der Fraktionen unterschiedlicher Futtermittel (Fraktionen in % der Trockenmasseeinwaage)

Futtermittel	RS [%]	NL [%]	TP [%]	NPN [%]	AW [%]
Actiprot® (AP)	70,7 ^{cd}	2,3 ^{cd}	1,6 ^{cd}	25,4 ^b	29,3 ^{bc}
Grassilage (GS)	61,6 ^e	3,2 ^b	0,8 ^d	34,5 ^a	38,4 ^a
Luzerngrünmehl (LZ)	69,6 ^d	3,1 ^{bc}	2,0 ^c	25,4 ^b	30,4 ^b
Maissilage (MS)	72,7 ^b	10,4 ^a	0,7 ^d	16,8 ^e	27,3 ^d
Rapsextraktionsschrot (RES)	75,8 ^a	1,0 ^e	7,2 ^a	16,5 ^e	24,2 ^e
Sojaextraktionsschrot 44 (SES 44)	75,6 ^a	1,7 ^d	4,2 ^b	18,2 ^{de}	24,4 ^e
Sojaextraktionsschrot 48 (SES 48)	72,7 ^b	2,0 ^d	4,4 ^b	21,1 ^c	27,3 ^d
Bio-Sojakuchen (BSK)	71,7 ^{bc}	2,1 ^d	6,8 ^a	18,8 ^d	28,3 ^{cd}
SEM	0,006	0,003	0,003	0,008	0,006
P-Wert	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Wie in Tabelle 3 ersichtlich unterschieden sich beim Stickstoff im Rückstand sowie in der gesamten Auswaschfraktion alle Futtermittel signifikant voneinander. Die Spanne im Rückstand reichte von 36 % bei MS bis 95,8 % bei SES 44. Generell hatten Krafftuttermittel eine niedrigere und rohfaserreiche Futtermittel eine höhere N-Auswaschfraktion.

Der Anteil von Stickstoff in der NL-Fraktion bewegte sich in einer Spanne von 1,0 % bei SES 48 und 5,9 % bei LZ. An der gesamten Auswaschfraktion betrug der Stickstoff dieser Fraktion 16,0 % bei AP, 7,3 % bei GS und 5,0 % bei MS.

RES wies mit 9,0 % den höchsten Anteil an Stickstoff in der TP-Fraktion auf. AP, GS und MS hatten geringen bis keinen Stickstoff in der TP-Fraktion und unterschieden sich nicht voneinander.

Beträchtliche Anteile von NPN-Verbindungen am Gesamtstickstoff von 44,1 % bis 55,5 % erreichten GS und MS. Diese Fraktion betrug 83 % bis 87 % der Auswaschfraktion von GS und MS sowie 79 % bis 97 % bei LZ und AP. In den Produkten der Ölsaaten war diese Stickstoffverbindung geringer vertreten, betrug aber durchwegs über 5,0 % am Gesamtstickstoff.

Eine Korrelationsanalyse zwischen Trockenmasse- und Stickstoffauswaschung der einzelnen Fraktionen aller Futtermittel ergab signifikant positive Korrelationen zwischen Trockenmasse- und Stickstoffauswaschung bei allen Fraktionen. ($p < 0,05$).

Tabelle 3: Stickstoffgehalt (N) der Fraktionen unterschiedlicher Futtermittel (Fraktionen in % der Stickstoffeinwaage)

Futtermittel	RS [%]	NL [%]	TP [%]	NPN [%]	AW [%]
Actiprot® (AP)	79,4 ^e	3,3 ^{bc}	0,5 ^{cd}	20,0 ^{cd}	20,6 ^d
Grassilage (GS)	46,8 ^g	3,9 ^b	0,0 ^d	44,1 ^b	53,3 ^b
Luzernegrünmehl (LZ)	69,4 ^f	5,9 ^a	1,7 ^c	24,2 ^c	30,6 ^c
Maissilage (MS)	36,0 ^h	3,2 ^{bc}	0,0 ^d	55,5 ^a	64,0 ^a
Rapsextraktionsschrot (RES)	85,3 ^d	1,4 ^d	9,0 ^a	5,4 ^{ef}	14,7 ^e
Sojaextraktionsschrot 44 (SES 44)	95,8 ^a	1,3 ^d	3,4 ^b	13,8 ^{de}	4,2 ^h
Sojaextraktionsschrot 48 (SES 48)	91,9 ^b	1,0 ^d	3,4 ^b	5,3 ^f	8,1 ^g
Bio-Sojakuchen (BSK)	88,7 ^c	1,9 ^{cd}	3,2 ^b	5,0 ^f	11,4 ^f
SEM	0,019	0,002	0,004	0,018	0,019
P-Wert	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit führte eine Erhöhung der Maschenweite der Nylonbeutel von 41 auf 50 μm zu keiner Erhöhung der Trockenmasse und des N-Gehalts der einzelnen Fraktionen. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie konnten auch von anderen Autoren bestätigt werden (Nocek 1988, Carro et al. 1995, Trujillo et al. 2010). So fanden Carro et al. (1995) keinen Effekt der Maschenweiten von 40 und 100 μm , Trujillo et al. (2010) keinen von 45 und 50 μm und Nocek (1988) keinen Effekt von 6 und 59 μm auf die Höhe der Auswaschverluste der Trockenmasse.

Im Gegensatz dazu stellten Huhtanen et al. (1998) fest, dass sich die Auswaschverluste mit einer Haushaltswaschmaschine mit sinkender Porengröße und geringerer offener Fläche der Beutel verringerten. Dabei unterschieden sich Beutel mit einer Porengröße von 1 μm und einer offenen Fläche von 2 % deutlich von Beuteln mit einer Porengröße von 41 μm und einer offenen Fläche von 33 %. Die kleinen Poren und die geringe offene Fläche verhindern den freien Austausch von Wasser und Mikroben und verringern die Auswaschung von löslichen Stoffen (Huhtanen et al. 1998). Varvikko und Vanhatalo (1990) kamen in ihrer Studie zum Ergebnis, dass innerhalb einer Maschenweite von 1 bis 41 μm und einer offenen Fläche der Nylonbeutel von 2 bis 33 % die offene Fläche einen größeren Effekt auf den Futterausfluss aus den Beuteln hatte. Auch Nocek (1985) wies auf den Effekt der Porengröße auf die Auswaschverluste hin und hielt fest, dass es erst ab 80 bis 100 μm Porengröße zu größeren Trockenmasse- und Stickstoffauswaschungen kam. Da in der vorliegenden Studie der Unterschied der Maschenweite nicht groß war (41 und 50 μm) und die Filtergewebe einen gleichen Anteil offener Fläche hatten, waren keine Unterschiede der Auswaschverluste erkennbar.

Die Ergebnisse der einzelnen Auswaschfraktionen zwischen den einzelnen Futtermitteln sind mit den Ergebnissen von Gierus et al. (2005) vergleichbar. Gierus et al. (2005) fanden für Grassilage einen Stickstoffanteil im Rückstand von 48,1 %, 0,9 % NL, 0 % TP und 41,3 % NPN. Der Unterschied der NL-Fraktion von Gierus et al. (2005) und unseren Ergebnissen ist wahrscheinlich durch die Behandlung der Silage begründet. Gierus et al. (2005) schnitten die Silage in 3 cm Stücke. Dagegen wurde in der vorliegenden Studie die GS durch ein 2 mm Sieb gemahlen. Durch das Mahlen, wodurch mehr feine Partikel entstanden, erhöhte sich der Gehalt an N in der NL-Fraktion. Auch die Werte von SES 44, SES 48 und RES waren ähnlich. Größere Unterschiede ergaben sich bei der TP-Fraktion. Diese könnten durch verschiedene chemische oder thermische Behandlung der Futtermittel in den Versuchen hervorgerufen worden sein, da Wulf und Südekum (2005) von verschiedener Löslichkeit des Proteins bei unterschiedlicher Behandlung berichten. Die N-Auswaschungsverluste von Sojaschrot in der Literatur bewegen sich zwischen 11 % und 20,6 % und waren deutlich höher als in der vorliegenden Studie (Wulf und Südekum 2005; Nocek 1985; Cozzi et al. 1995). Dagegen waren die N-Verluste von RES im Bereich von Wulf und Südekum (2005), die 12,9 % beobachteten. Die N-Auswaschungsverluste von Knautgras-, Wiesenlieschgras- sowie Rotkleesilage mit 40 % TM bei Nocek und Grant (1987) betragen 35 bis 45 % und waren etwas geringer als die hier beobachteten Werte. Kelzer et al. (2010) charakterisierte DDGS nach dem CNCPS und fanden NPN-Verbindungen in der Höhe von 17,9 % und einen gesamt löslichen Stickstoff von 20,0 %, was mit AP in diesem Versuch gut übereinstimmte.

Li et al. (2012) fand bei Mais- und Weizen-DDGS jedoch höhere Auswaschverluste der Trockenmasse und des Rohproteins von zirka 36,9 % und 25,4 %. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass Li et al. (2012) die DDGS für den in situ Versuch durch ein 2 mm Sieb mahlten und in dieser Studie keine Mahlung stattfand. Weiters fand Liu (2008) unterschiedliche Partikelgrößen in DDGSs verschiedener Anlagen und mehr Protein in den feinen Bestandteilen, was auf einen Effekt des Mahlens auf höhere Proteinauswaschungen hindeutet.

Die wasserlösliche Fraktion der Trockenmasse von RES lag in dem von Wulf und Südekum (2005) gefundenen Bereich von 26,1 %. Andere Autoren berichteten bei Sojaschrot ebenfalls Trockenmasseauswaschungsverluste von 22 bis 38 % (Wulf und Südekum 2005; Nocek 1985; Huntington und Givens 1997; Woods et al. 2003). Die Trockenmasseverluste von Silagen betragen hingegen 20 bis 40 % (Nocek und Grant 1987) und waren etwas geringer als in dieser Studie.

MS, GS, LZ und AP zeigten die geringsten Stickstoffgehalte im Rückstand. Dies könnte auf das feine Mahlen der Futtermittel und die dadurch verursachte höhere Auswaschung feiner Partikel sowie auf die hohen Gehalte an NPN-Verbindungen von MS und GS zurückzuführen sein. Die unterschiedliche Auswaschung feiner Partikel kann dadurch erklärt werden, dass die gleiche Siebgröße beim Mahlen von Futtermittel verschiedene Partikelgrößen der Futtermittel verursacht (Beckers et al. 1996). Der hohe NPN-Gehalt der Silagen kann unter anderem durch den Proteinabbau während der Silierung entstehen (Crawford et al. 1978). Der hohe Stickstoffanteil im Rückstand von SES 44, SES 48 und BSK ist möglicherweise auf die geringe Wasserlöslichkeit der Prolamine und Gluteline zurückzuführen (Wohlt et al., 1973). Der hohe Anteil von Stickstoff in der TP-Fraktion von RES auf die hohe Wasserlöslichkeit von Albuminen und Globulinen in Raps (Wohlt et al. 1973).

Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass Maschenweiten der Nylonbeutel von 41 und 50 µm keinen allgemeinen Einfluss auf die Höhe und Zusammensetzung der Auswaschfraktion haben. Jedoch treten bei fein vermahlten Futtermitteln (AP und LZ) höhere Stickstoffauswaschungen bei 50 µm Maschenweite auf (Ergebnisse nicht dargestellt). Die Auswaschfraktionen der Futtermittel unterscheiden sich teilweise stark, was auf deren charakteristische Eigenschaften zurückgeführt werden kann.

Literatur

- Beckers, Y., Théwis, A., Maudoux, B. (1996). Intestinal digestibility of rumen undegraded N of concentrates measured by the mobile nylon bag technique. *Animal Feed Science and Technology*. 61, 305–323
- Carro, M.D., Lebzien, P., Rohr, K. (1995). Effects of pore size of nylon bags and dilution rate on fermentation parameters in a semi-continuous artificial rumen. *Small Ruminant Research*. 15, 113–119
- Cozzi, G., Andrighetto, I., Berzaghi, P., Polan, C.E. (1995). In Situ Ruminal Disappearance of Essential Amino Acids in Protein Feedstuffs. *Journal of Dairy Science*. 78, 161–171
- Crawford, R.J., Hoover, W.H., Sniffen, C.J., Crooker, B.A. (1978). Degradation of Feedstuff Nitrogen in the Rumen vs Nitrogen Solubility in Three Solvents. *Journal of Animal Science*. 46, 1768–1775
- Gierus, M., De Jonge, L., Meijer, G.A.L. (2005). Physico-chemical characteristics and degradation rate of soluble protein obtained from the washout fraction of feeds. *Livestock Production Science*. 97, 219–229
- Huhtanen, P., Vanhatalo, A., Varvikko, T. (1998). Enzyme activities of rumen particles and feed samples incubated in situ with differing types of cloth. *British Journal of Nutrition*. 79, 161–168
- Huntington, J.A., Givens, D.I. (1997). Studies on in situ degradation of feeds in the rumen: 2. The effect of bag numbers incubated and post-incubation processing of residues. *Animal Feed Science and Technology*. 68, 115–129
- Kelzer, J.M., Kononoff, P.J., Tedeschi, L.O., Jenkins, T.C., Karges, K., Gibson, M.L. (2010). Evaluation of protein fractionation and ruminal and intestinal digestibility of corn milling co-products. *Journal of Dairy Science*. 93, 2803–2815
- Li, C., Li, J.Q., Yang, W.Z., Beauchemin, K.A. (2012). Ruminal and intestinal amino acid digestion of distiller's grain vary with grain source and milling process. *Animal Feed Science and Technology*. 175, 121–130
- Liu, K. (2008). Particle size distribution of distillers dried grains with solubles (DDGS) and relationships to compositional and color properties. *Bioresource Technology*. 99, 8421–8428
- Naumann, C., Bassler, R. (2012). Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- Nocek, J.E. (1985). Evaluation of Specific Variables Affecting In Situ Estimates of Ruminal Dry Matter and Protein Digestion. *Journal of Animal Science*. 60, 1347–1358
- Nocek, J.E. (1988). In situ and Other Methods to Estimate Ruminal Protein and Energy Digestibility: A Review. *Journal of Dairy Science*. 71, 2051–2069
- Nocek, J.E., Grant, A.L. (1987). Characterization of In Situ Nitrogen and Fiber Digestion and Bacterial Nitrogen Contamination of Hay Crop Forages Preserved at Different Dry Matter Percentages. *Journal of Animal Science*. 64, 552–564
- Ørskov, E.R. (1992). Protein nutrition in ruminants. Acad. Press. San Diego
- Stern, M.D., Varga, G.A., Clark, J.H., Firkins, J.L., Huber, J.T., Palmquist, D.L. (1994). Evaluation of Chemical and Physical Properties of Feeds That Affect Protein Metabolism In the Rumen. *Journal of Dairy Science*. 77, 2762–2786
- Trujillo, A.I., Marichal, M. d. J., Carriquiry, M. (2010). Comparison of dry matter and neutral detergent fibre degradation of fibrous feedstuffs as determined with in situ and in vitro gravimetric procedures. *Animal Feed Science and Technology*. 161, 49–57
- Varvikko, T., Vanhatalo, A. (1990). The effect of differing types of cloth and of contamination by non-feed nitrogen on intestinal digestion estimates using porous synthetic-fibre bags in a cow. *British Journal of Nutrition*. 63, 221–229
- Wohlt, J.E., Sniffen, C.J., Hoover, W.H. (1973). Measurement of Protein Solubility in Common Feedstuffs. *Journal of Dairy Science*. 56, 1052–1057
- Woods, V., O'Mara, F., Moloney, A. (2003). The nutritive value of concentrate feedstuffs for ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*. 110, 111–130
- Wulf, M., Südekum, K.-H. (2005). Effects of chemically treated soybeans and expeller rapeseed meal on *in vivo* and in situ crude fat and crude protein disappearance from the rumen. *Animal Feed Science and Technology*. 118, 215–227

Autorenanschrift

Gerhard Lindner
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11, A-1190 Wien
E-Mail: gerhardlindner@gmx.net

Effect of two different energy systems (ME and NE) on zootechnical performance and slaughter parameters in fattening pigs fed a protein-reduced diet

Karl Schedle¹, Karl Wintersteiger¹, Etienne Corrent² und Jörg Bartelt³

¹ Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien, AT

² AJINOMOTO Eurolysine S.A.S, Paris, FR

³ Lohmann Animal Health GmbH, DE

Introduction

Dietary protein reduction in combination with simultaneous supply of limiting amino acids reduces environmental load with nitrogen significantly and helps to save costs for feeding stuffs. By placing minimum constraints on each of the essential amino acids (EAA), low protein diets can be created without impact on performance or carcass characteristics. Nevertheless, the energy level must also be taken into account, to take full advantage of low protein diets. When the protein level is reduced, less energy is required in the feed (Noblet et al. 1987). However, that efficient utilization of dietary energy is not taken into account in all energy systems (Noblet et al. 1994). In this context, the objective of the present study was to determine the effect of a protein-reduced diet based on metabolisable energy (ME) and net energy (NE) on zootechnical performance and slaughter parameters.

Material and methods

The study employed a total of 60 female Austrian crossbred (OEHYB) [(Large White x German land race) x Piétrain] pigs, with approximately 30 kg at the onset of the study. The study was carried out at the Austrian Pig Testing Facility, Streitdorf, Lower Austria. Pigs were distributed equally among 4 dietary treatments, housed in 12 pens (i.e. 5 animals per pen, 3 pens per treatment) considering litter and initial body weight (table 1). Each box was equipped with an automatic dry-feeding-system and a nipple drinking system. Animals were fed and watered *ad libitum* over the whole fattening period.

Animals received a grower diet from start of the experiment up to a mean body weight (BW) of about 60.8 ± 1.16 kg. At 60.8 ± 1.16 kg BW until the end of experiment (109.6 ± 0.71 kg BW) animals were fed a finisher diet.

In the study a protein-reduced diet (15.0% CP in grower/13.5% CP in finisher diet) formulated on metabolisable energy (ME) (trial group 2) was created and compared to a control diet (trial group 1) (17.0% CP in grower/14.5% CP in finisher diet) with equal calculated energy content on ME basis (13.4 MJ ME). Additionally, a third and a fourth trial group (trial group 3 und 4) with reduced protein concentrations formulated on same calculated net energy (NE) (10.1 MJ/NE in grower, 10.2 MJ/NE in finisher diets) content, as the control group was included in the experiment (table 2). Treatment 3 and 4 for differed in the feedstuff composition (table 1). For each trial group in the grower and in the finisher period a basal diet was mixed and analysed for their crude protein (CP) and amino acid (AA) content. On the basis of the analysed amino acid concentrations of the basal diets (analyses were done by Ajinomoto) the amino acids Lys, Met, Thr and Trp were supplemented as crystalline amino

acids up to the calculated SID amino acid concentrations. Supplementation of the crystalline amino acids was orientated towards the ideal protein in the relation of SID Lys:Met+Cys:Thr:Trp:Val:Ile:Leu:His = 1:0.60:0.67:0.20:0.65:0.53:1.00:0.32 for grower diets and of SID Lys:Met+Cys:Thr:Trp:Val:Ile:Leu:His = 1:0.60:0.68:0.20:0.65:0.53:1.00:0.32 for finisher diets. SID Values were taken from Sauvant (2004).

All diets were analysed for dry matter (DM), crude protein (CP), ether extracts (EE), crude fibre (CF), ash (CA), starch and sugar according to standard procedures of VDLUFA (Naumann and Basler 2012). Ajinomoto performed amino acid analyses in grower and finisher diets. SID amino acid values based on feed analyses of each diet and were carried out with the EvaPig® software. ME content was calculated after analysis of nutrients according to the GfE (2008). Additionally, the NE content was calculated according to Noblet et al. (1994). When the animals reached a BW of 109.6 ± 0.71 kg, pigs were slaughtered under standardized conditions at the slaughterhouse of the Austrian Pig Testing Facility.

Table 1: Components of grower and finisher diets

Feedstuff	Trial group 1	Trial group 2	Trial group 3	Trial group 4
	Grower diets			
Corn, %	40.000	45.000	50.600	52.360
Barley, %	31.660	31.440	26.815	26.815
Soybean meal (without hulls), %	20.000	15.000	14.000	13.500
Wheat bran, %	3.000	3.000	4.000	3.000
Vegetable oil, %	2.500	2.400	1.400	1.100
Ca-carbonate, %	1.100	1.100	1.100	1.100
Monocalcium-P, %	0.500	0.500	0.500	0.500
Salt, %	0.300	0.300	0.300	0.300
Vitamin and trace element premix, %	0.520	0.520	0.520	0.520
L-lysine-HCl, %	0.220	0.400	0.410	0.420
DL-methionine, %	0.070	0.100	0.075	0.080
L-threonine, %	0.100	0.180	0.180	0.190
L-tryptophan, %	0.010	0.040	0.040	0.040
Phytase, %	0.015	0.015	0.015	0.015
	Finisher diets			
Corn %	69.500	72.000	64.000	57.400
Barley, %	11.040	11.370	21.275	29.300
Soybean meal (without hulls), %	17.000	14.000	12.000	10.000
Vegetable oil, %	-	-	-	0.450
Ca-carbonate, %	1.000	1.000	1.000	1.000
Monocalcium-P, %	0.300	0.300	0.300	0.300
Salt, %	0.300	0.300	0.300	0.300
Vitamin and trace element premix, %	0.520	0.520	0.520	0.520
L-lysine-HCl, %	0.220	0.350	0.400	0.460
DL-methionine, %	0.015	0.040	0.045	0.055
L-threonine, %	0.100	0.150	0.170	0.200
L-tryptophan, %	0.025	0.035	0.045	0.055
Phytase, %	0.015	0.015	0.015	0.015

Experimental data was statistically analysed by the GLM procedure of SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA). 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. For all results of the growth performance and carcass characteristics, least square means (LS-means) of dietary treatments were compared using the Tukey-Kramer-Test for each variable. The following tables present the least square means 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.

Model for growth performance traits

$$Y_{ijk} = \mu + TG_i + Rep_j + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = Tested parameter
 μ = Overall means
 TG_i = Trial group i , $i = 1, 4$
 Rep_j = Replicates j , $j = 1, 3$
 e_{ijk} = Residual error

Initial, middle- and accordingly final-BWs act as co-variable in the statistical model.

Results and discussion

The analysed and calculated nutrient contents of the diets are listed in table 2. The ranges of energy contents of grower and finisher diets were as planned. However, the calculated difference between treatments was not visible for ME and NE (table 2). Perhaps the small calculated difference between the treatments might be the reason, why no difference was visible after the feedstuff analysis. The results of analysed AA and calculated SID AA contents (calculation based on AA concentrations in feed) are listed in table 2. In grower period the analysed contents of SID Lys were 8.4 g/kg on average. Thus, the expected value of 9 g/kg was not reached. Met, Thr and Trp were very close to expected values. In finisher period, Lys, Met, Thr and Trp contents were very close to expected values; however, Met+Cys was not. Table 3 shows the calculated SID Lys to other essential AA ratios based on feed staff analysis. As the concentration of Met+Cys did not match required values, the calculated ratio of Lys and Met+Cys of 60% was not reached. Furthermore, the optimal ratio between Lys and Val, Ile and His respectively was failed in finisher diet of treatment 4.

Zootechnical performance data are presented in table 4. During grower period (30.5 ± 0.35 kg to 60.8 ± 1.16 kg) no statistically significant difference between treatments were observed. Pigs showed a normal daily feed intake (dFI) ($\bar{1666}$ g) compared to other studies (Schedle et al. 2010; 2012). However, average daily gain (ADG, 623g on average) and feed:gain (F:G, 2.74 on average) was lower than the performance of other studies (Schedle et al. 2010; 2012). A possible explanation for that observation might be the Lys content in grower diets, which was ranged beneath the recommendation of the GfE (2006) and the study of Schedle et al (2010; 2012).

In the finisher period (60.8 ± 1.16 to 109.6 ± 0.71 kg) the control group (TG 1) showed a significantly higher dFI compared to TG 4 (+12.5%; $p < 0.05$). It is well known that an undersupply with EAA or branched chain amino acids can reduce feed intake in pigs (Wiltafsky et al. 2009a; 2009b). Hence the reason for the decreased daily feed intake in TG 4 might be the undersupply of specific amino acids. In succession the control group (TG 1) reached the highest ADG (1024 g). Thus, compared to TG 3+4 ($\bar{949}$ g), a significant difference was observed ($p < 0.05$). Other authors also described a strong combination between dFI and ADG. In consequence, no differences between treatments were recorded for the parameter F:G.

Over the whole fattening period (30.5 ± 0.35 kg to 109.6 ± 0.71 kg) a significant difference in feed to gain was deducted between TG 4 and TG3 ($p < 0.05$). The other performance parameters (dFI $\bar{2351}$ g, ADG $\bar{820}$ g) were not influenced by the treatments. The observed significant difference between TG 3 and 4 regarding the parameter F:G is difficult to explain. Hence further research work seems necessary to give a plausible explanation for that phenomenon.

Carcass composition and meat quality parameters are presented in table 5. Values were within normal ranges. For the parameter dressing, a significant difference was observed between TG 2 and TG 4 ($p < 0.05$), where TG2 showed the highest dressing percentage. The highest intramuscular fat content was observed in the control group (TG 1), which was increased up to 40% ($p < 0.05$) compared to TG 2. Several studies of our institute show differences in carcass parameter, especially for the parameter intramuscular fat content, when applying a similar ME and SID amino acid contents (Schedle et al. 2010; 2012). After additional calculation of the net energy content of those diets, a difference in net energy between the diets was observed. Fat content can influence feed to gain and additionally the palatability of the meat. Hence the effect of an increasing NE content on zootechnical performance and meat quality should be evaluated in further studies.

Table 2: Analyzed and calculated nutrient contents of grower diets (in g/kg fresh matter)

	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4
	Grower diets				Finisher diets			
MJ ME analyzed	13.6	13.4	13.4	13.4	13.5	13.4	13.6	13.6
<i>MJ ME (calculated)</i>	<i>13.4</i>	<i>13.4</i>	<i>13.2</i>	<i>13.2</i>	<i>13.4</i>	<i>13.4</i>	<i>13.3</i>	<i>13.2</i>
MJ NE analyzed	10.2	10.2	10.1	10.2	10.3	10.3	10.4	10.4
<i>MJ NE calculated</i>	<i>10.1</i>	<i>10.3</i>	<i>10.1</i>	<i>10.1</i>	<i>10.2</i>	<i>10.3</i>	<i>10.2</i>	<i>10.2</i>
Dry matter (DM)	867	868	866	866	860	850	864	865
Crude protein (CP)	170	152	151	150	144	135	133	127
Ether extracts (EE)	35	31	32	30	36	34	31	36
Crude fibre (CF)	28	28	28	28	28	28	28	28
Ash (CA)	49	47	49	47	43	43	41	40
Starch	462	499	477	491	500	531	534	529
Sugar	16	11	15	20	37	31	37	37
Lysine	9.0	9.4	9.5	8.9	9.2	9.2	8.9	9.1
SID Lysine	8.1	8.5	8.6	8.2	8.4	8.4	8.1	8.3
Methionine + Cysteine	5.6	5.5	5.4	5.3	4.8	4.7	4.7	4.6
SID Methionine + Cysteine	5.0	4.9	4.9	4.8	4.3	4.3	4.3	4.2
Threonine	7.3	7.0	7.1	6.8	6.2	6.3	6.1	5.9
SID Threonine	6.4	6.0	6.3	6.1	5.4	5.6	5.3	5.3
Tryptophan	2.0	2.0	2.0	2.0	1.9	1.8	1.8	1.8
SID Tryptophan	1.7	1.8	1.8	1.8	1.7	1.6	1.6	1.6
Valine	8.5	7.2	7.2	7.1	6.8	6.1	5.9	5.5
SID Valine	7.3	6.2	6.3	6.2	6.0	5.4	5.2	4.8
Isoleucine	7.2	5.9	5.9	5.8	5.7	5.1	5.0	4.5
SID Isoleucine	6.5	5.2	5.2	5.2	5.0	4.5	4.4	4.0
Leucine	13.7	11.9	12.2	12.2	12.1	11.6	11.3	10.1
SID Leucine	12.3	10.7	11.0	11.1	11.1	10.7	10.4	9.2
Phenylalanine	8.4	7.1	7.1	7.0	6.8	6.2	6.1	5.6
SID Phenylalanine	7.6	6.4	6.3	6.2	6.3	5.6	5.6	5.0
Histidine	3.8	3.3	3.5	3.4	3.7	3.3	3.2	3.0
SID Histidine	3.3	2.9	3.1	3.0	3.3	2.9	2.9	2.6
SID Lysine:MJ ME	0.60	0.63	0.64	0.61	0.62	0.63	0.60	0.61
SID Lysine:MJ ME (calculated)	0.60	0.63	0.65	0.62	0.63	0.63	0.61	0.63
SID Lysine:MJ NE	0.79	0.83	0.84	0.79	0.81	0.82	0.77	0.79
SID Lysine:MJ NE (calculated)	0.80	0.83	0.85	0.81	0.82	0.81	0.79	0.81

Table 3: Calculated SID AA ratio based on AA-analysis of study diets

Traits	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4
Grower period				
SID Lysine	100.0	100.0	100.0	100.0
SID Methionine + Cysteine	61.7	57.6	57.0	58.5
SID Threonine	79.0	70.6	73.3	74.4
SID Tryptophan	21.0	21.2	20.9	22.0
SID Valine	90.1	72.9	73.3	75.6
SID Isoleucine	80.2	61.2	60.5	63.4
SID Leucine	151.9	125.9	127.9	135.4
SID Histidine	40.7	34.1	36.0	36.6
Finisher period				
SID Lysine	100.0	100.0	100.0	100.0
SID Methionine + Cysteine	51.2	51.2	53.1	50.6
SID Threonine	64.3	66.7	65.4	63.9
SID Tryptophan	20.2	19.0	19.8	19.3
SID Valine	71.4	64.3	64.2	57.8
SID Isoleucine	59.5	53.6	54.3	48.2
SID Leucine	132.1	127.4	128.4	110.8
SID Histidine	39.3	34.5	35.8	31.3

Table 4: Results of zootechnical performance

Traits	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4	SEM	p-value
Grower period						
Initial BW, kg	30.8	30.6	30.0	30.6	0.35	0.721
Middle BW, kg	58.7	62.2	59.5	62.9	1.16	0.404
ADG, g	624	622	621	626	19.46	0.168
dFI, g	1676	1686	1693	1610	47.52	0.589
F:G, kg/kg	2,74	2,77	2,85	2,60	0.05	0.118
Finisher period						
Middle BW, kg	58.7	62.2	59.5	62.9	1.16	0.404
Final BW, kg	108.4	110.0	110.3	109.5	0.73	0.770
ADG, g	1024 ^a	962 ^{ab}	947 ^b	951 ^b	14.88	0.035
dFI, g	3085 ^a	2924 ^{ab}	2949 ^{ab}	2741 ^b	42.51	0.003
F:G, kg/kg	3.03	3.05	3.05	2.93	0.04	0.407
Total fattening period						
Initial BW, kg	30.8	30.6	30.0	30.6	0.35	0.721
Final BW, kg	108.4	110.0	110.3	109.5	0.73	0.770
ADG, g	831	820	816	816	10.21	0.714
dFI, g	2365	2363	2425	2253	36.81	0.244
F:G, kg/kg	2.84 ^{ab}	2.84 ^{ab}	3.02 ^a	2.77 ^b	0.03	0.011

Table 5: Carcass characteristics and meat quality

Traits	TG 1	TG 2	TG 3	TG 4	SEM	p-value
Dressing, %	80.7 ^{ab}	81.8 ^a	80.8 ^{ab}	79.4 ^b	0.22	<0.001
Lean, %	60.7	60.6	60.6	59.6	0.23	0.237
Valuable cuts, %	52.0	51.8	51.7	51.4	0.17	0.519
Fat:Meat, 1: ...	7.8	7,6	8.1	7.6	0.16	0.693
Back fat depth, mm	20.4	20.4	20.2	20.4	0.32	0.975
Meat depthness	74.0	74.8	75.2	73.6	0.46	0.535
pH1 loin muscle	6.2	6.2	6.3	6.3	0.03	0.573
pH1 ham	6.6	6.4	6.4	6.5	0.04	0.273
Loin lightness [†] (U)	65.0	63.4	62.3	62.2	0.48	0.159
Drip losses, %	4.3	4.7	5.0	4.2	0.28	0.813
Intramuscular fat, %	1.64 ^a	1.17 ^b	1.45 ^{ab}	1.59 ^a	0.05	0.008

[†] „Göttlinger Farbhelligkeitsmesser“ <45 U = PSE; >80 U = DFD (U = Units)

Conclusion

In summary, the diet with the lowest protein content (TG 4) showed the most efficient F:G ratio. In consideration of the fact that intramuscular fat acts as an important player for meat palatability, the alteration in intramuscular fat content as affected by treatment 2 should be evaluated in further studies.

References

- Naumann, C., Bassler, R. (2012). Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- Noblet J, Fortune H, Shi XS, Dubois S. Prediction of net energy value of feeds for growing pigs. *Journal of Animal Science*. 1994;72(2):344–54.
- Noblet J, Henry Y, Dubois S. Effect of protein and lysine levels in the diet on body gain composition and energy utilization in growing pigs. *Journal of Animal Science*. 1987;65(3):717–26.
- Sauvant D. et al. (eds.) (2004): Tables of composition and nutritional value of feed materials, ISBN 9076998418
- Schedle K, Mair C, Windisch W. Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung von Weizen-trockenschlempe auf die Mast- und Schlachtleistung, Trockenmasse und Ammoniak im Colonchymus sowie Harnstoff im Blutplasma bei Mastschweinen. *Züchtungskunde*. 2010;82:303–15.
- Schedle K, Pecina J, Punz C, Mair C. Inclusion of NSP-hydrolyzing enzymes in diets for grower-finisher pigs containing two levels of distillers dried grains with solubles. *Large Animal Reviews*. 2012;18:129–34.
- Schedle K, Pletzner C, Etle T, Zhao L, Domig KJ, Windisch W. Effects of insoluble dietary fibre differing in lignin on performance, gut microbiology, and digestibility in weanling piglets. *Archives of Animal Nutrition*. 2008;62(2):141–51.
- Wiltafsky MK, Bartelt J, Relandeau C, Roth FX. Estimation of the optimum ratio of standardized ileal digestible isoleucine to lysine for eight- to twenty-five-kilogram pigs in diets containing spray-dried blood cells or corn gluten feed as a protein source. *Journal of Animal Science*. 2009a;87(8):2554–64.
- Wiltafsky MK, Schmidlein B, Roth FX. Estimates of the optimum dietary ratio of standardized ileal digestible valine to lysine for eight to twenty-five kilograms of body weight pigs. *Journal of Animal Science*. 2009b;87(8):2544–53.

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.schedle@boku.ac.at

Neubewertung von Schweinefuttermitteln im Rahmen der Bayerischen Eiweißinitiative

Martin Schäffler, Hermann Lindermayer und Günther Propstmeier

Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, DE

Einleitung

Die bayerische Eiweißinitiative hat zum Ziel, die Fütterung mit heimischen Eiweißfuttermitteln weiter voranzubringen. Die Abhängigkeit von Importeiweißfutter wie Sojaextraktionsschrot soll dadurch verringert werden. Derzeit werden ca. 800.000 t Sojaextraktionsschrot importiert. Davon gehen 40 % in die Schweinefütterung.

Ein Teilprojekt der Eiweißinitiative ist die qualitative Neubewertung der Futtermittel für Schweine von in Bayern registrierten Futtermittelherstellern. Dazu gehören Lebensmittelverarbeiter wie Molkereien, Brauereien, Bäckereien, Kartoffelverarbeiter, aber auch klassisch die Futtertrocknungen. Viele der Verarbeitungsreststoffe sind ja nach Entzug der energieliefernden Roh Nährstoffe für die Lebensmittelherstellung (Stärke, Öle/Fette) zu Eiweißfutter (Molke, Bierhefe, Rapskuchen...) geworden. Sie sollten als „ehemalige“ Lebensmittel und oft gute Protein-/Aminosäureträger bewusst im Futtertrog landen und nicht in der Energiegewinnung Verwendung finden. Die Verfütterung „heimischer“ Nebenprodukte hilft Sojaimporte reduzieren und ist Ressourcenschonung schlechthin.

Unser Hauptanliegen dabei war, die in Bayern vorhandenen Futterrohstoffe aufzuspüren, mögliche Potentiale für die Schweinefütterung aufzudecken, deren aktuelle Futterqualität zu bestimmen und für jeden Reststoff Futterdatenblätter für die Beratung zu erstellen. Mit Hilfe der Datenblätter sollte wieder eine gezielte, umweltschonende und tierwohlfördernde Verwertung der Rohstoffe über den Schweinemagen ermöglicht werden.

Material und Methoden

Die Vorgehensweise war immer gleich. Zum Beginn standen eine Befragung der Futterhersteller und die Erfassung der Futterproben. Die Futterproben wurden von den staatl. Beratern der Fachzentren für Schweinezucht und -haltung und von Beratern des Landeskuratorium für tierische Veredelung Bayern (LKV) gezogen. Diese hatten regional die Kontakte zu den Futterherstellern in ihrem Beratungsgebiet hergestellt. Zusätzlich zur Futterbeprobung wurden aktuelle Preise und die verfügbaren Futtermengen abgefragt.

Die Futterproben wurden im Labor Grub der Bayer. Landesanstalt für Landwirtschaft auf Roh Nährstoffe plus Aminosäuren und Mineralstoffe untersucht.

Es folgte eine Bewertung des Futters nach Energiegehalt und es wurden Einsatzempfehlungen für Zuchtsauen-, Ferkel-, Mastschweinerationen ausgesprochen. Die Preiswürdigkeit in Relation zu Soja 43% RP oder Weizen wurde in Abhängigkeit davon, ob ein Eiweißfuttermittel oder Energiefuttermittel vorlag, bestimmt. Für jeden Rohstoff wurden die ermittelten Daten in ein Futterdatenblatt mit Inhaltsstoffen, Einsatzempfehlungen, Preiswürdigkeiten und besonderen Hinweisen zur Verfütterung zusammengefasst.

Ergebnisse

Nachfolgend ist beispielhaft ein Datenblatt mit Fütterungshinweisen für eine Bierhefe einer bayerischen Brauerei dargestellt (Abbildung 1 und 2).

Futterdatenblatt		
[REDACTED]		Lab.nr.: 1611
Bezeichnung:	Bierhefe, flüssig	(Angaben in 88%T)
Trockenmasse	g:	184,2
Rohasche	g:	39,8
Rohprotein	g:	411,2
Rohfett	g:	6,6
Rohfaser	g:	23,1
NfE	g:	399,4
Zucker	g:	12,8
Stärke	g:	0,0
ME	MJ:	12,80
Kalzium	g:	3,8
Phosphor	g:	8,9
Natrium	g:	0,2
Kalium	g:	10,0
Magnesium	g:	1,7
Kupfer	mg:	11,8
Zink	mg:	22,4
Lysin	g:	20,0
Methionin	g:	6,6
Cystin	g:	5,9
Threonin	g:	17,3
Tryptophan	g:	5,4
Regelmäßige Futterbewertungen sind die Basis für die zielgerichtete Verfütterung!		

Abbildung 1: Futterdatenblatt Bierhefe

Fütterungshinweise				
Bierhefe flüssig				
				
Besondere Inhaltsstoffe:				
<ul style="list-style-type: none"> • hoher T-Gehalt • gute Aminosäurenqualität • phosphorreich • ev. B-Vitamine 				
Einsatzempfehlung:				
	Zuchtsau – tragend	Zuchtsau – säugend	Ferkel	Mast
% (in 88 % T)	8 – 12	8 – 12	3 – 5	8 – 12
kg/Tag (frisch)	3 – 5	3 – 5	0,3 – 0,5	2 – 3
Preiswürdigkeit(€/dt)¹⁾: Preis Soja 43 x 0,2				
¹⁾ frei Trog, ohne Zusatzkosten und Gewinnerwartung				
Hinweise:				
<ul style="list-style-type: none"> • 1 hl Bierausstoß = 22 kg Biertreber, 0,4 kg Malzkeime und 1,5 kg Bierhefe (jeweils Frischmasse) • Frischverfütterung nicht ohne Abtötung der (lebenden) Hefen (sonst Verdauungsstörungen) , z.B. durch Erhitzen, NaCl, Säuren (z.B. 1% Propionsäure, 0,3% Ameisensäure) • Überprüfung des T-Gehaltes (8 – 30 %) • Restalkohol/Resthopfen vermeiden (Futterverweigerung) • Lagerdauer auf zwei Wochen begrenzen • Auf Lagertankhygiene achten (jährlich zweimal reinigen) • P-armes Mineralfutter 				
Nebenprodukte aus der Lebensmittelverarbeitung und der Energiegewinnung sind wertvolle Futtermittel für Schweine, die Verfütterung ist ökologisch und ökonomisch sinnvoll!				

Abbildung 2: Fütterungshinweise Bierhefe

In dem vorangegangenen Datenblatt wird eine flüssige Bierhefe beschrieben, die mit 184 g Trockenmasse einen höheren Gehalt als eine Standardbierhefe hat. Dies wird auf dem Datenblatt unter "Besondere Inhaltsstoffe" dargestellt. Die Einsatzempfehlung liegt bei 8-12% im Trockenfutter. Das sind 2 bis 3 kg Frischmasse/Tag und Mastschwein. Unterstellt wurde dabei eine durchschnittliche Futtermenge von 2 kg Trockenfutter/Tag je Mastschwein.

Im Abschnitt "Hinweise" können dem Datenblatt "Tipps" zur Produktion, Lagerung und Rationsgestaltung entnommen werden. Bei der vorliegenden Bierhefe ist es dabei besonders wichtig, dass die Hefe mit z.B. 0,3% Ameisensäure sicher abgetötet wird, um Verdauungsstörungen zu vermeiden.

Bis heute wurden 162 Datenblätter verfasst und an die Futterhersteller und auch die Berater rückgemeldet. Die Daten stehen auf Nachfrage für die Beratung zur Verfügung.

Vorhanden sind v.a. Müllereinebenprodukte, Molken, Brauereireste, Brotsorten, diverse Back- und Teigwaren, Rapsprodukte und auch „Exoten“ (z.B. Gewürze). In Abbildung 3 ist die Herkunft der Proben dargestellt.

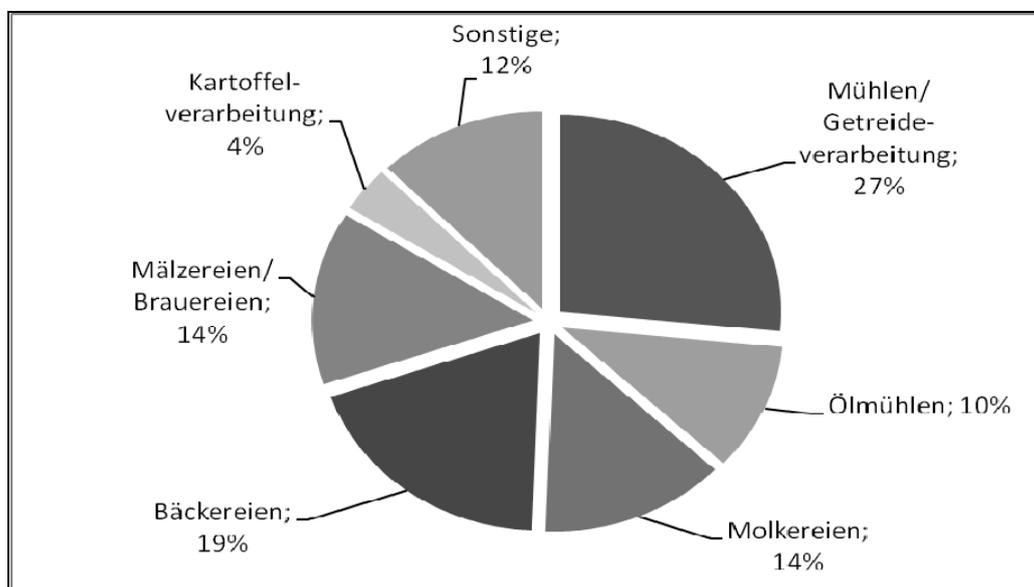


Abbildung 3: Herkunft der Futterproben

Schlussfolgerungen

Es wurden 162 Futtermittel von 82 bayerischen Futterherstellern erfasst und bewertet. Die Erhebung hat wieder einmal bestätigt, dass ein- und derselbe Rohstoff (z.B. Bierhefe) in Abhängigkeit vom Hersteller und Herstellungsprozess in der Nährstoffausstattung stark differieren kann. Ebenso sind Futteruntersuchungen bei den Herstellern oft nicht vorhanden oder veraltet. Der Landwirt und sein Fütterungsberater bekommen deshalb zu wenige Informationen für eine gezielte Rationsberechnung.

Durch die Neubewertung der Futtermittel im Rahmen der Eiweißinitiative sind jetzt die Hersteller in der Lage, vorab die Landwirte besser über den Futterwert ihres Reststoffes zu informieren. Die Verfütterung kann so zielgerichteter erfolgen. Sowohl die Landwirte als auch die Futterhersteller und natürlich die Schweine profitieren davon. Nebenbei haben die Berater wieder mehr Kontakte zu den regionalen Futterherstellern geknüpft, haben für die Verfütterung und nicht die energetische Verwertung futtertauglicher Nebenprodukte geworben und stehen als Ansprechpartner bei Fragen oder Pro-

duktionsumstellungen parat. Bei Bedarf kann zeitnah wieder eine gemeinsame Futterbewertung vorgenommen werden, man kennt sich ja.

Nur die staatliche und die angeschlossene LKV-Fütterungsberatung hat Zugriff auf alle Futterdatenblätter aus der Erhebung. Interessierte Landwirte oder andere Berater erhalten jederzeit gezielte Auskunft über einen Rohstoff bzw. auch das jeweilige Datenblatt.

Im Aufbau ist ein flächendeckendes Futternetzwerk mit Futterherstellern, Landwirten und Beratern als Partner. Die "Datenblätter" sind ein Teil davon, ein anderer die Inhaltsstoffe der in Bayern aktuell verwendeten Mineralfuttermittel aller Firmen, ein weiterer die "Preismeldung" für Futterrohstoffe von den Beratern. Das Ganze soll "online" erfolgen, immer wenn vor Ort Daten erstellt werden, können sie nach Prüfung in den "FutterRing" gelangen.

Literatur

LfL, 2011: Schweinefütterung mit heimischen Eiweißfuttermitteln, 2.Auflage 2011, Bayerische Landesanstalt f. Landwirtschaft Freising-Weihenstephan

LfL, 2012: Futterberechnung für Schweine, 18.Auflage 2012, Bayerische Landesanstalt f. Landwirtschaft Freising-Weihenstephan

Autorenanschrift

Martin Schäffler
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
Prof.-Dürrwachter-Platz 3; D-85586 Poing-Grub
E-Mail: martin.schaeffler@lfl.bayern.de

Schweinemast mit Rapsextraktionsschrot

Wolfgang Preißinger, Hermann Lindermayer und Günther Propstmeier

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

Einleitung

Rapsprodukte insbesondere Rapsextraktionsschrot haben in der Vergangenheit immer mehr Einzug in die Schweinefütterung gefunden. So wurde in den letzten Jahren der Einsatz von Rapsextraktionsschrot in der Ferkelaufzucht und Schweinemast in mehreren Versuchen und UFOP-Projekten (Stations- und Praxisversuche) bearbeitet und Einsatzempfehlungen daraus abgeleitet. Die Ergebnisse zeigen, dass beim Ferkel bis zu 10 % und in der Mast bis zu 15 % Rapsextraktionsschrot eingesetzt werden können (Weber et al., 2007; Weber et al., 2010; Weiß et al., 2007; Weiß et al., 2008; Weiß und Schöne 2008). Nach einem erfolgreichen Ferkelfütterungsversuch in Schwarzenau mit Rapsextraktionsschrot (6 % im Ferkelfutter bis 18 kg LM und 14 % im Ferkelfutter bis 30 kg LM; Lindermayer et al., 2012) sollten diese hohen Empfehlungen auch in der Mast unter bayerischen Fütterungsbedingungen (Eigenmischer, bayerische Genetik) überprüft werden. Es wurden im Anfangs- bzw. Mittelmastmastfutter 10 % bzw. 15 % Rapsextraktionsschrot eingesetzt. In der Endmast war das Rapsextraktionsschrot alleiniger Eiweißträger. Die nährstoffidentische Kontrollgruppe dazu enthielt nur Sojaextraktionsschrot. Der Versuch wurde im Rahmen des Aktionsprogrammes „Heimische Eiweißfuttermittel“ durchgeführt.

Folgende Versuchsfragen sollten beantwortet werden:

- Welche Leistungen (Nährstoffverdaulichkeiten und Energiegehalte, Futteraufnahmen, Zunahmen, Futteraufwand, Tiergesundheit, Schlachtleistungen) werden bei Einsatz von Raps- im Vergleich zum Sojaextraktionsschrot in der Schweinemast erzielt?
- Wie hoch liegen die Futterkosten?

Material und Methoden

Der Fütterungsversuch mit Mastschweinen wurde am Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum Schwarzenau bis zu einem angestrebten Mastendgewicht von ca. 120 kg LM durchgeführt. Für den Versuch wurden 192 Ferkel der Rasse Pi x (DL x DE) nach Lebendmasse, Abstammung und Geschlecht ausgewählt und gleichmäßig auf zwei Gruppen („Soja“ bzw. „Raps“) 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 31,9 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 der Firma Schauer für jede Behandlungsgruppe. Die Flüssigfuttermengen wurden für jede Bucht automatisch verwogen. Die Lebendmassen wurden wöchentlich am Einzeltier erfasst. Einmal pro Woche wurde der Kot der Tiere pro Bucht nach folgendem Schema bonitiert: Hart=1, normal=2, weich=3, wässrig=4. 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 Misanlage Schwarzenau hergestellt. Die Futteruntersuchen wurden im Labor der Abteilung Qualitätssicherung und Untersu-

chungswesen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft in Grub (AQU 3) nach VDLUFA-Richtlinien durchgeführt. Die Stickstoff- und Phosphorausscheidungen wurden aus der Differenz Aufnahme mit dem Futter und Ansatz je kg Zuwachs ermittelt. Für P wurden 5 g/kg Zuwachs entsprechend den Vorgaben der GfE (2006) unterstellt, bei N wurden 25,6 g/kg angenommen (Kirchgeßner et al, 2008). Zur Bestimmung der Preiswürdigkeiten wurden aktuelle Zukaufspreise 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 Versuchsrationen (Tabelle 1) basierten auf Weizen, Gerste, HP-Soja- und Rapsextraktionsschrot und waren bei den wesentlichen Parametern (Energie, Aminosäuren) vergleichbar.

Tabelle 1: Versuchsrationen und analysierte Inhaltswerte (4 Analysen/Futtertyp, Angaben in 88 % T)

Futter/ Inhaltsstoffe		Gruppe „Soja“			Gruppe „Raps“		
		AM	MM	EM	AM	MM	EM
Weizen	%	50	50	50	52	60	60
Gerste	%	30	33,5	37	25	17,5	20
Sojaextraktionsschrot 48	%	17	14	11	9	3,5	--
Rapsextraktionsschrot	%	--	--	--	10	15	16,5
Futteröl	%	--	--	--	1	1,5	1,5
Mineralfutter „Raps“ ¹⁾	%	--	--	--	3	2,5	2
Mineralfutter „Soja“ ²⁾		3	2,5	2	--	--	--
ME (MJ/kg) ³⁾	MJ	13,32	13,46	13,44	13,43	13,52	13,53
Stärke	g	442	484	461	439	480	448
Zucker	g	24	25	25	27	27	28
Rohfaser	g	33	33	38	40	37	50
Rohprotein	g	184	175	171	182	172	166
Lysin	g	10,5	9,5	8,5	10,5	9,4	8,3
Methionin + Cystin	g	6,5	6,6	6,1	6,2	7,2	6,4
Threonin	g	6,5	6,4	6,3	6,7	7,0	6,3
Tryptophan	g	2,3	2,2	2,1	2,4	2,2	2,0
Ca	g	9,0	7,0	4,8	8,2	7,2	4,6
P	g	5,2	4,9	4,4	5,3	5,1	4,8
Glukosinolat	mmol	-	-	-	1,1	1,7	1,8
Polyensäuren	g	8,0	8,0	8,1	12,9	13,2	13,2
Preis (€/dt)	€/dt	30,9	29,87	28,85	30,9	29,87	28,85
Mögl. Rapspreis	€/dt				35,5	32,97	32,61
Rapsschrot-Preiswürdigkeit frei Trog (Soja HP x)					0,71	0,66	0,65

¹⁾ Mifu Raps: 10Lys/1,1Met/3Thr/20,5Ca/1P/5Na/300.000A/35.000D3/3000E/50mgJ-16.666 Phyt6

²⁾ Mifu Soja: 8Lys/1,5Met/1,5Thr/21Ca/3P/5Na/320.000A/50.000D3/3000E/66mgJ-16.666 Phyt3

³⁾ VQ aus Verdauungsversuchen

Für die beiden Gruppen waren somit gleiche Voraussetzungen gegeben. Zum Energieausgleich wurden in den Rationen mit Rapsextraktionsschrot zusätzlich 1 bzw. 1,5 % Futteröl und deutlich mehr Weizen als Gerste eingemischt. Zur Mineralstoff- Spurenelement- und Vitaminergänzung wurden zwei handelsübliche Mineralfutter eines Herstellers eingesetzt. Laut Firmenangaben war das in der Gruppe „Raps“ verwendete Mineralfutter speziell für Rationen mit mehr als 8 % Raps konzipiert.

Ergebnisse und Diskussion

Der Versuch lief für beide Gruppen ohne größere Probleme von ca. 32 kg bis 123 kg Lebendmasse ab. Lediglich ein (Gruppe „Soja“) bzw. zwei Mastschweine (Gruppe „Raps“) mussten wegen Fundamentproblemen vorzeitig aus dem Versuch genommen werden. Das Leistungsniveau war mit 859 g (Gruppe „Soja“) bzw. 829 g (Gruppe „Raps“) tägliche Zunahmen ansprechend. Im Versuchsmittel lag der tägliche Futterverbrauch in beiden Gruppen bei genau 2,25 kg Futter. Die signifikanten besseren täglichen Zunahmen der Mastschweine der Gruppe „Soja“ resultierten v.a. aus dem großen Vorsprung (+59 g) in der Anfangsmast (vgl. Tabelle 2). Dieser Vorsprung schwächte sich aber im Verlauf der Mast immer mehr ab. Bei den Effizienzparametern (Futter-/Energieaufwand, Futter-/Energieverwertung) lag die Gruppe „Soja“ vorn. Wegen des gleichen Futterverbrauches in beiden Gruppen ließ sich diese Überlegenheit statistisch nicht absichern. Eine Verminderung der Futteraufnahme bei hohen Anteilen von Rapsextraktionsschrot bei Flüssigfütterung trat nicht ein. Jedoch wurde in der Gruppe „Raps“ verstärkt Schwanzbeißen beobachtet.

Der P-Ausstoß ist mit Rapsextraktionsschrot in der Mastration immer höher (mehr P/kg plus mehr Eiweißfutter in der Ration). In vorliegender Untersuchung betrug die Erhöhung 10 %. Mit Raps- plus Sojaextraktionsschrot in der Ration war gegenüber alleinigem Einsatz von Sojaextraktionsschrot der notwendige Eiweißfuttermittelverbrauch um rund 30 % höher (36,2 gegenüber 27,7 kg pro Mastschwein).

Die Futterkosten frei Trog wären in vorliegendem Versuch ausgeglichen, wenn Rapsschrot (€/dt) ungefähr 65 % des Preises für Sojaextraktionsschrot (48 % Rohprotein) ausmachen würde.

Bei etwa gleichen Schlachtgewichten in beiden Gruppen waren große Unterschiede im Fleisch- bzw. Fettansatz zu erkennen (Tabelle 3). Diese Unterschiede ließen sich statistisch absichern. Die Tiere der Gruppe „Soja“ waren bei allen Schlachtparametern überlegen. Sie hatten die bessere Ausschachtung, mehr Fleisch (Fleischfläche, Fleischmaß, Muskelfleischanteil, Fleisch im Bauch), weniger Fett (Fettfläche, Speckmaß) und damit das günstigere Fleisch-Fett-Verhältnis. Die Erklärung für den geringeren Fleischansatz der Scheine in der Gruppe „Raps“ könnte möglicherweise in der Anfangsmast mit den aufgezeigten schlechten Leistungen begründet sein. In jungem Alter findet die Proteineilagerung und Fleischbildung statt. Kompensationsversuche gegen Mitte und Ende der Mast für verminderte Zunahmen in der Anfangsmast führen zu verstärkter Fetteilagerung.

Die Kotkonsistenzen waren in beiden Gruppen im Mittel mit 2,0 normal. Lediglich an zwei Beobachtungstagen wurde in der Gruppe „Raps“ in drei Buchten ein geringfügig weicherer Kot festgestellt.

Pro Mastschwein fielen in der Gruppe „Soja“ 0,47 m³ Gülle mit 4,1 % T an, in der Gruppe „Raps“ waren es 0,45 m³ mit 5,1 % T. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse standardisiert auf einen T-Gehalt von 5 % zusammengestellt. Die Werte für P₂O₅ und K₂O liegen im mittleren Bereich, Gesamt-N und NH₄-N und MgO liegen oberhalb der Standardangaben der Gruber Futterwerttabelle (Lfl, 2012). 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 724 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. In den nativen Güllelagen bei den Parametern Gesamt-N, NH₄-N, P₂O₅, MgO und CaO die Werte bei der Sojagruppe niedriger. Kupfer, Zink, Mangan und Eisen bewegen sich im Bereich der bisher in Schwarz genau ermittelten Werte für Schweinemastgülle.

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

Mastleistung	Einheit	Gruppe „Soja“	Gruppe „Raps“	Sign. p < 0,05
Tierzahl	n	96	96	-
Ausfälle	n	1	2	
Mastdauer	Tage	107 ^a	111 ^b	0,023
Lebendmasse				
Versuchsbeginn	kg	31,9	31,9	0,883
Beginn Phase 2	kg	64,2 ^a	61,8 ^b	0,007
Beginn Phase 3	kg	90,4 ^a	87,6 ^b	0,018
Versuchsende	kg	123,1	123,0	0,947
Zuwachs	kg	91,2	91,1	0,906
Zunahmen/Tag				
Phase 1	g	771 ^a	712 ^b	0,001
Phase 2	g	934	919	0,437
Phase 3	g	914	887	0,312
gesamt	g	859 ^a	829 ^b	0,047
Futter-/Energieverzehr/Tag (88 % T)				
Anfang	kg/MJ	1,73/23,1	1,72/23,1	0,912/0,945
Mitte	kg/MJ	2,34/31,5	2,38/32,2	0,818/0,767
Ende	kg/MJ	2,67/36,0	2,66/36,0	0,951/0,982
gesamt	kg/MJ	2,25/29,7	2,25/30,2	0,964/0,794
Futter-/Energieaufwand (kg Futter/kg Zuwachs bzw. MJ ME/kg Zuwachs)				
Anfang	1:	2,24 ^a /29,9 ^a	2,43 ^b /32,7 ^b	0,014/0,008
Mitte	1:	2,51/33,8	2,61/35,3	0,442/0,393
Ende	1:	3,04/40,9	3,06/41,4	0,904/0,799
gesamt	1:	2,64/34,9	2,75/36,8	0,351/0,195
Futter-/Energieverwertung (g Zunahmen pro kg Futter bzw. pro MJ ME)				
Anfang	g	446 ^a /33,5 ^a	412 ^a /30,7 ^a	0,011/0,006
Mitte	g	403/30,0	385/28,5	0,364/0,322
Ende	g	332/24,7	329/24,3	0,852/0,748
gesamt	g	381/28,8	365/27,3	0,299/0,168
Ausscheidungen pro Mastschwein				
Stickstoff	kg	3,47 (100)	3,33 (96)	-
Phosphor	kg	0,52 (100)	0,57 (110)	-
Futterkosten pro Mastschwein – (Preisgleichheit frei Trog: Rapsschrot = Soja 48 % Rp x 0,66)				
gesamt	€	60,75 (100)	60,75 (100)	
pro kg Zuwachs	€	0,67	0,67	
Eiweißfuttermittelverbrauch pro Mastschwein				
Sojaextraktionsschrot	kg	27,7	6,8	
Rapsextraktionsschrot	kg	--	29,4	
gesamt	kg	27,7 (100)	36,2 (131)	

Zahlen in Klammern relativ zur Gruppe „Soja“

Schlussfolgerungen

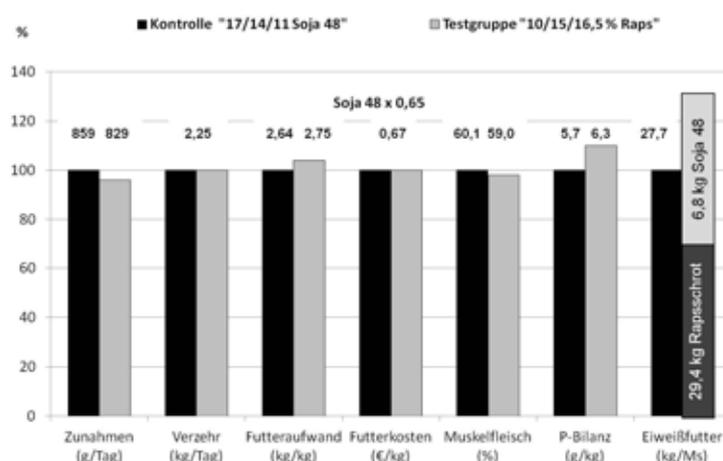
Die wichtigsten Ergebnisse des Versuches finden sich in Abbildung 1 wieder. Trotz nährstoffidentischer Mischungen konnten die Mastschweine mit hohen Anteilen an Rapsextraktionsschrot in der Ration das Zunahmenniveau der Kontrollgruppe mit Sojaextraktionsschrot nicht erreichen.

Tabelle 3: Schlachtleistungen (LSQ-Werte)

Schlachtparameter	Einheit	Gruppe „Soja“	Gruppe „Raps“	Sign. p < 0,05
Tierzahl	n	95	94	
Schlachtgewicht	kg	98,3	97,0	0,182
Ausschlachtung	%	79,9 ^a	78,9 ^b	0,001
Fleischfläche	cm ²	59,8 ^a	56,5 ^b	0,001
Fettfläche	cm ²	16,8 ^a	17,8 ^b	0,031
Fleisch/Fett	1:	0,28 ^a	0,32 ^b	0,001
Speckmaß	mm	13,8 ^a	14,6 ^b	0,014
Fleischmaß	mm	67,3 ^a	64,6 ^b	0,001
Fleisch i. Bauch	%	58,3 ^a	57,1 ^b	0,010
Muskelfleisch	%	60,1 ^a	59,0 ^b	0,001

Tabelle 4: Güllemenge und Gülleinhaltsstoffe je m³ Gülle (Angaben standardisiert auf 5 % T)

Gülleinhaltsstoffe/m ³		Gruppe „Soja“	Gruppe „Raps“
Gülle/Mastschwein	m ³	0,47	0,45
Trockenmasse	%	4,1	5,1
pH		7,4	7,2
Org. Substanz	kg	36,4	37,9
N-gesamt	kg	6,0	5,4
NH ₄ -N	kg	4,9	4,2
K ₂ O	kg	3,3	2,4
MgO	kg	1,5	1,6
CaO	kg	1,8	2,0
Na	kg	0,6	0,5
P ₂ O ₅	kg	2,7	2,3
S	kg	0,2	0,3
Cu	g	8,1	5,9
Zn	g	41,0	31,5
Mn	g	38,1	25,5
Fe	g	63,6	40,6

**Abbildung 1:** Mast- und Schlachtleistungen sowie Eiweißfuttermittelverbrauch mit Rapsextraktionsschrot im Mastfutter (Kontrollgruppe = 100)

Der Futteraufwand war dementsprechend erhöht. Rapsextraktionsschrot in sehr hohen Anteilen im Mastfutter führte nicht zu einem gleichwertigen Fleischansatzniveau wie bei den sojagefütterten Kontrolltieren.

Bei der Fütterung von Rapsextraktionsschrot müssen Zusatzkosten für mögliche Leistungseinbußen, technischen Mehraufwand, Verschlechterung der P-Bilanz einhergehend mit mehr Gülleflächenbedarf sowie geringere Schlachtkörperwerte beim Einkaufspreis des Rapsextraktionsschrotes mit berücksichtigt 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.; F. X. Rot; F. J. Schwarz; G. Stangl (2008) Tierernährung, 12. neu überarbeitete Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt a. Main.

LfL (2012): Futterberechnung für Schweine, 19. Auflage, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft.

Lindermayer, H.; W. Preißinger; G. Propstmeier (2012): Ferkelaufzucht geht auch mit Raps. Bayr. Landw. Wochenbl. 50, 32-33

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

Weber, M., P. Stenzel, A. Grimmer, U. Gieschler (2007): Zum Einfluss von hohen Rapsextraktionsschrotanteilen in der Mastschweinefütterung. In: Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda 2007, Herausgeber: Verband der Landwirtschaftskammern, Bonn, 157-159.

Weber, M., P. Stenzel, A. Grimmer, U. Gieschler (2010): Einsatz von Rapsextraktionsschrot in der Ferkelfütterung. In: Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda 2010, Herausgeber: Verband der Landwirtschaftskammern, Bonn, 195-198.

Weiß, J., F. Schöne (2008): Rapsextraktionsschrot in der Schweinefütterung, UFOP-Praxisinformation.

Weiß, J., W. Sommer, M. Weber (2007): Untersuchungen von Rapsextraktionsschrot bei Mastschweinen unter Praxisbedingungen. In: Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda 2007, Herausgeber: Verband der Landwirtschaftskammern, Bonn, 154-156.

Weiß, J., W. Sommer, M. Weber (2008): Rapsextraktionsschrot an Mastschweine auch in hohen Mischungsanteilen bewährt. In: Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda 2008, Herausgeber: Verband der Landwirtschaftskammern, Bonn, 176-178.

Autorenanschrift

Dr. Wolfgang Preißinger
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft / Dienstort Schwarzenau
Stadtschwarzacher Str. 18; D-97359 Schwarzach a. Main
E-Mail: wolfgang.preissinger@LfL.bayern.de

Gewinnung von Futterproteinkonzentrat aus Grünlandbiomasse

Christina Nadler, Daniel Brugger und Wilhelm Windisch

Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München, DE

Einleitung

Die Bereitstellung von hochwertigem Futterprotein ist eines der Flaschenhälse der Tierproduktion. Allein in Deutschland werden jährlich etwa 4 Mio. Tonnen Rohprotein verfüttert, wovon der überwiegende Teil (~2,4 Mio. t) durch Sojaimporte (v.a. aus Argentinien, Brasilien, USA) gedeckt wird. Angesichts der weiter anhaltenden Zunahme der Weltbevölkerung (9 Milliarden bis 2050) und ihrer Nachfrage nach Lebensmitteln tierischer Herkunft wird diese Eiweißlücke in der Fütterung in den nächsten Jahrzehnten noch weiter anwachsen [1]. Die Tierernährung ist daher bestrebt, alternative Ansätze zur Entschärfung der Eiweißlücke zu identifizieren.

Bereits Mitte des vorigen Jahrhunderts widmete man sich dem Potential von grünem Blattmaterial als Proteinlieferant zur Schließung möglicher Versorgungslücken in der menschlichen Ernährung. Diese Untersuchungen blieben in der Tierernährung jedoch weitgehend unbeachtet. Bis heute hat Biomasse aus Grünland für die Fütterung monogastrischer Nutztierspezies so gut wie keine Bedeutung. Dies liegt daran, dass sich die potentiell verdaulichen Nährstoffe im Zellinneren befinden und durch dessen starke Vernetzung bzw. Umschließung mit Faser- und Zellwandbestandteilen für Verdauungsenzyme kaum zugänglich sind [2]. Durch Auspressen des Pflanzensaftes aus Blattmaterial und Extraktion des darin enthaltenen Eiweißes kann allerdings ein Blattproteinkonzentrat gewonnen und für die Verdauungssysteme von Monogastriern zugänglich gemacht werden [3].

Prinzipiell sind die Blätter zahlreicher Pflanzenarten für die Gewinnung von Blattproteinkonzentraten geeignet [4, 5, 6]. Dabei muss beachtet werden, dass sich antinutritive Inhaltsstoffe im Pflanzensaft limitierend auf den Einsatz des Blattproteinkonzentrats auswirken können [7]. Das Aminosäuremuster des Blattproteinkonzentrats wird von verschiedenen Autoren überwiegend als sehr günstig angegeben, ähnlich dem von Sojaprotein [8, 9]. Als erstlimitierende Aminosäuren werden meist Methionin und Cystein genannt [4, 10]. Die Angaben verschiedener Autoren zum Gehalt an Lysin sind uneinheitlich. So wird sowohl von hohen Lysingehalten, ähnlich denen von Milch [4], als auch von verminderten Lysingehalten im Vergleich zu Proteinquellen tierischer Herkunft [10] berichtet. Prinzipiell wird das Aminosäuremuster als relativ unabhängig von der Pflanzenart, der Düngungsstufe und der Reife der verwendeten Blattmasse beschrieben [7, 10].

In dieser Studie sollte das Nutzungspotential von Proteinkonzentrat aus Blattmasse ausgelotet und die grundlegenden Eigenschaften dieser potentiellen Rohproteinquelle in Bezug auf einen Einsatz in der Fütterung monogastrischer Nutztiere herausgearbeitet werden.

Material und Methoden

Fünf Grünlandstandorte (drei gräserbetonte, zwei leguminosenbetonte) und ein Ackerrotkleestandort im Landkreis Freising (Deutschland) wurden im Abstand von jeweils 2 Wochen zu drei Schnitzeitpunkten beprobt (Mitte Rispenstadien, Anfang Blüte, Ende Blüte). Es wurde jeweils nur Blattmaterial des ersten Aufwuchses geerntet. Alle Standorte wurden ökologisch bewirtschaftet (kein mineralischer Dünger). Der Rotklee wurde im Vorjahr angesät.

Es wurden etwa 12 kg frisches Material von Hand je Standort und Zeitpunkt geschnitten (Schnitthöhe ca. 7 cm), bei 4°C zwischengelagert und möglichst rasch weiterverarbeitet. Die Gewinnung des Press-

safts erfolgte durch fünfminütige Zerkleinerung des Materials in einem Cutter und anschließende Pressung mittels mechanischer Stempelpresse (Fassungsvolumen 1,5 Liter). Der gewonnene Saft wurde gesiebt und in mit Eis gekühlten Polyethylenflaschen (1 Liter) aufgefangen. Bis zur Weiterverarbeitung wurde der Presssaft zusammen mit dem Presskuchen luftdicht verpackt und bei -20°C tiefgefroren gelagert.

Die Gewinnung des Rohproteins aus dem aufgetauten Presssaft (15 Stunden; 20 °C) erfolgte durch Säurefällung mittels 140 ml 100%iger Propionsäure je kg Presssaft (pH 3,6-3,8; 20°C) und zehnmütiger Inkubationszeit. Vorversuche zeigten, dass eine weitere Säurezulage keine höhere Koagulat-Ausbeute mit sich brachte. Anschließend wurden die Proben durch ein Weißband-Filterpapier (MN 640 m) filtriert. Der abfiltrierte Fällungsrückstand wurde anschließend bis zur weiteren Verarbeitung tiefgefroren (-20°C) gelagert.

Sämtliche Haupt- und Nebenprodukte (Ausgangsmaterial, Presssaft, Presskuchen, Proteinkonzentrat, Filtrat) wurden im Duplikat auf Trockenmasse- und Rohproteingehalte hin untersucht (Gefrietrocknung, Kjeldahl-Methode). Die Analyse der einzelnen Aminosäuren im Proteinkonzentrat erfolgte durch vorangehende saure Hydrolyse und anschließende Ionenaustauschchromatographie (LC-2000, Biotronik, Berlin, Deutschland) aus jeweils 1g getrocknetem Material. Zur Bestimmung von Methionin und Cystein wurde gesondertes Probematerial mittels Perameisensäure oxidiert und die dabei entstehenden Derivate (Methioninsulfon, Cysteinsäure) anschließend sauer hydrolysiert und quantifiziert. Lediglich die Gehalte der Aminosäure Tryptophan konnten nicht experimentell bestimmt werden. Hierzu wurde ein Schätzwert von 13,3 mg je g Reineiweiß angenommen [11].

Ergebnisse

Zur Gewinnung des Grasproteins musste dieses zunächst aus der Grasmatrix in den Presssaft überführt werden. Die bei der Pressung erreichten Abpressgrade (Verhältnis von gewonnener Menge Presssaft bezogen auf die eingesetzte Menge an Ausgangsmaterial) lagen bei den Dauergrünlandstandorten im Mittel bei ca. 45 %, beim Rotkleestandort bei durchschnittlich 59 %.

Die über die drei Schnitzeitpunkte gemittelten Gehalte an Trockenmasse und Rohprotein der verwendeten Biomasse lagen bei den Dauergrünlandstandorten mit 22 % Trockenmasse und 13 % Rohprotein in den für das verwendete Pflanzenmaterial typischen Bereichen, wobei im Verlauf der Vegetationsperiode die für Grünland typischen Zunahmen der Trockenmasse sowie Abnahme der Rohproteingehalte erkennbar waren. Der Rotklee zeichnete sich mit durchschnittlich 15 % Trockenmasse und 19 % Rohprotein v.a. durch seinen höheren Rohproteingehalt im Vergleich zu den Dauergrünlandstandorten aus. Hier stieg der Rohproteingehalt im Verlauf der Vegetationsperiode von 17 auf 20 % an. Das gewonnene Proteinkonzentrat wies im Mittel Rohproteingehalte von etwa 31 % auf, zeigte jedoch ein starkes Abfallen der Rohproteingehalte mit zunehmendem Vegetationsstadium (von rund 44 % auf etwa 17 %). Dieser Effekt war bei den gräserbetonten Standorten besonders ausgeprägt. Aus Rotklee konnte hingegen ein Proteinkonzentrat mit durchschnittlich 43 % Rohprotein und einer geringeren Schwankungsbreite (39-45 %) gewonnen werden. Insgesamt war eine enge Korrelation der Rohproteingehalte des Proteinkonzentrats mit dem Rohproteingehalt des Ausgangsmaterials zu beobachten.

Abbildung 1 zeigt die Aufteilung des Rohproteins in 1 kg Trockenmasse des Ausgangsmaterials im Zuge der Verarbeitung zu Presskuchen, Proteinkonzentrat und Filtrat für die Dauergrünlandstandorte sowie für Rotklee. Die Gesamtmenge an verfügbarem Rohprotein schwankte zwischen 107 g (Dauergrünland, Ende Blüte) und 200 g (Rotklee, Ende Blüte) im Ausgangsmaterial. Hiervon verblieb der größte Teil im Presskuchen. Durchschnittlich konnten 19 g (Dauergrünland) bzw. 53 g (Rotklee) Rohprotein aus dem Presssaft als Proteinkonzentrat gewonnen werden. Die erzielten Proteinausbeuten lagen beim Rotklee mit durchschnittlich 29 % deutlich über denen des Dauergrünlands von durchschnittlich 14 %.

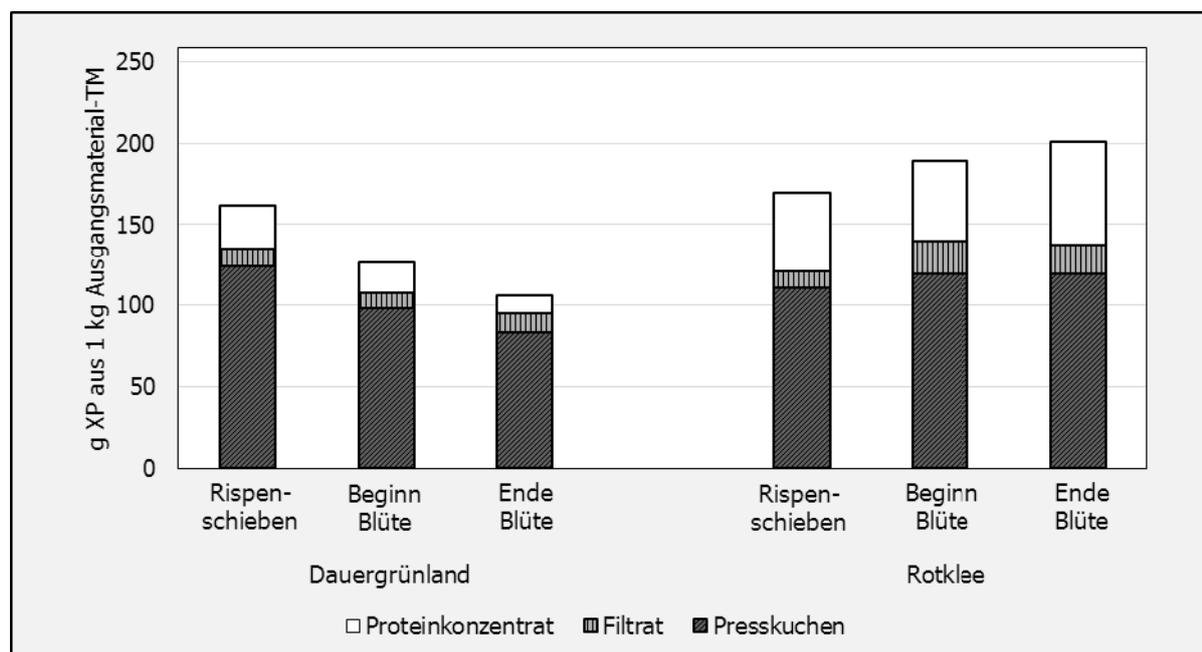


Abbildung 1: Aufteilung des Rohproteins aus 1 kg Ausgangsmaterial-T auf Presskuchen, Filtrat und Proteinkonzentrat nach Standortgruppen und Schnittzeitpunkten

Tabelle 1: Aminosäuregehalte der Grasproteinkonzentrate nach Schnittzeitpunkt [mg/g Reinprotein]

	Dauergrünland (mg AS/g Reineiweiß ^{*)}			Rotklee (mg AS/g Reineiweiß ^{*)}
	Rispen-schieben	Anfang Blüte	Ende Blüte	Im Mittel über drei Schnittzeitpunkte
LYS	61,6 ±2,3	57,7 ±5,1	46,3 ±14,0	63,7 ±1,4
MET+CYS	30,6 ±1,3	28,6 ±2,3	27,5 ±3,6	26,1 ±0,6
THR	53,0 ±0,6	53,0 ±1,3	52,8 ±3,7	52,3 ±0,1
VAL	62,6 ±0,7	62,4 ±2,1	61,1 ±4,9	62,9 ±0,3
ILE	51,1 ±0,4	50,8 ±1,6	48,3 ±3,3	51,6 ±0,6
LEU	94,3 ±1,1	91,6 ±4,4	85,2 ±6,2	95,3 ±0,5
PHE	58,8 ±2,6	55,6 ±5,5	53,3 ±3,7	60,1 ±2,1
HIS	24,0 ±0,3	23,4 ±0,7	21,2 ±1,5	24,4 ±0,3
Summe der nicht-essentiellen AS	551 ±4	564 ±18	591 ±25	550 ±1,0

^{*)} Gehalte an Trp mit 13,3 mg/g Reineiweiß geschätzt [11]

Der Anteil des Reineiweißes (Summe aller AS) am Rohprotein nimmt bei den Proteinkonzentraten aus Dauergrünland mit fortschreitender Vegetation von 82 % (Rispen-schieben) über 74 % (Beginn Blüte) auf 55 % (Ende Blüte) ab. Beim Rotklee blieb der Anteil dagegen weitgehend konstant (82 %).

Grasproteinkonzentrat enthielt im Reineiweiß relativ hohe Anteile an essentiellen Aminosäuren in Summe (Tabelle 1), wobei die Werte im Verlauf der Vegetation von 45 auf 41 % abnahmen. Dieser Rückgang war bei Lysin und Methionin besonders stark ausgeprägt. Auffallend waren insbesondere die hohe Variabilität und die niedrigeren Reineiweißgehalte zum dritten Schnittzeitpunkt der Dauergrünlandstandorte bei annähernder Konstanz des ersten und zweiten Schnittzeitpunkts. Der Rotklee-standort verhielt sich demgegenüber über den Zeitverlauf dagegen sehr konstant.

Diskussion

Die relativ niedrigen Ausbeuten an Rohprotein von nur etwa 15 % (Dauergrünland) bzw. 29 % (Rotklee) sind in erster Linie auf die technologische Einfachheit des angewandten Verfahrens zurückzuführen und dürften sich noch deutlich steigern lassen. Hierzu stehen vielfältige technologische Möglichkeiten zur Verfügung, die v.a. unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten geprüft werden müssen. Denkbar wäre z.B. eine enzymatische Vorbehandlung des Blattmaterials, das Überspülen der Pressrückstände mit Wasser während der Pressung zur Unterstützung der Extraktion von Zellinhaltsstoffen [3, 5] oder eine Kombination mehrerer Press- bzw. Aufschlussverfahren.

Die Aminosäuregehalte der Dauergrünlandstandorte nahmen zum ersten Erntezeitpunkt (Rispenstadien) vergleichbare Werte an wie die in anderen Arbeiten publizierten Aminosäuregehalte vergleichbarer Pflanzenarten [5, 10]. Ende der Blüte war dies dagegen nicht mehr der Fall.

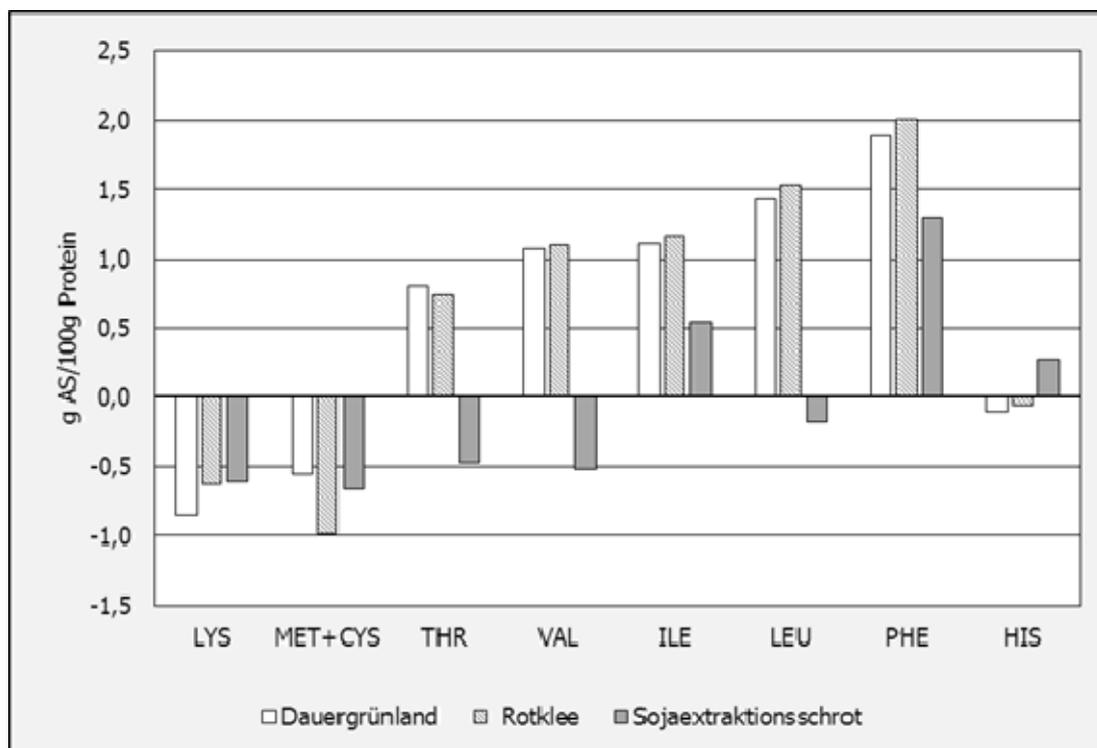


Abbildung 2: Differenz zwischen den gemessenen Gehalten an Aminosäuren aus Dauergrünland (1. Schnitt), Rotklee (Mittel aus 3 Schnitten) sowie Sojaextraktionsschrot [11] und den idealen Gehalten an Aminosäuren im Reineiweiß für Mastschwein [12]

Abbildung 2 zeigt die Differenz zwischen den gemessenen Gehalten an Aminosäuren aus Dauergrünland (1. Schnitt), Rotklee (Mittel aus 3 Schnitten) sowie Sojaextraktionsschrot [11] und den idealen Gehalten an Aminosäuren im Reineiweiß für Mastschweine [12]. Negative Werte bezeichnen dabei Untergehalte an Aminosäuren. Die Bedarfsdeckung von Schweinen wird bei allen drei Proteinquellen durch Untergehalte an Lysin und schwefelhaltigen Aminosäuren limitiert. Hinsichtlich der übrigen essentiellen Aminosäuren ist das Reineiweiß aus Dauergrünland und Rotklee dagegen dem Sojaprotein überlegen und liefert insbesondere einen Überhang an Threonin, Valin und Leucin.

Unter Berücksichtigung eines mittleren jährlichen Hektarertrags an von etwa 7 Tonnen Trockenmasse aus ökologisch bewirtschaftetem Dauergrünland bzw. Anbau von Ackerrotklee ist unter Hochrechnung

der hier präsentierten Ergebnisse mit einem Gesamtertrag an Reineiweiß von etwa 50 - 150 kg (Dauergrünland) bzw. 320 kg (Rotklee) pro Hektar und Jahr zu rechnen. Dies kommt nur bis auf etwa ein Drittel (Rotklee) an den Anbau von Soja heran (ca. 1000 kg Reineiweiß/ha/a). Hierbei ist jedoch abgesehen vom verfahrenstechnischen Verbesserungspotenzial zu berücksichtigen, dass Grünland nicht wie Soja durch hohe Standortanforderungen limitiert und oftmals sogar auf unbestimmte Zeit nutzbar ist (Dauergrünland). Darüber hinaus sind auch Extensiv- oder Grenzstandorte verwertbar. Der Verzicht auf Bodenbearbeitungsmaßnahmen oder den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln bietet darüber hinaus arbeitswirtschaftliche, ökonomische und ökologische Vorteile, die auch für den Einsatz im Ökolandbau sehr gut nutzbar wären. Durch die Nutzung heimischer Grünlandflächen bietet das Grasproteinkonzentrat die Möglichkeit der heimischen Eiweißfuttermittelproduktion, ohne eine allzu starke Flächenkonkurrenz zu anderen Ackerkulturen zu verursachen, da der anfallende Presskuchen weiterhin als Wiederkäuerfutter nutzbar ist.

Literatur

- [1] Stockinger, B.; Schätzl, R. (ohne Jahresangabe): Strategien zur Erhöhung des Anteils von heimischen Eiweißfuttermitteln in der Nutztierfütterung. Institut für Ländliche Strukturentwicklung, Betriebswirtschaft und Agrarinformatik. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft. München.
- [2] Pirie, N. W. (1987): Leaf Protein and its by-products in human and animal nutrition. Cambridge University Press.
- [3] Pirie, N. W. (1966): Leaf Protein as a Human Food. In: Science 152, 3730, 1701-1705.
- [4] Carlsson, R.; Hanczakowski, P. (1989): Waste Green Parts of Plants as a Raw Material for Leaf Protein Concentrate Production. In: Biological Wastes, 28, 83-90.
- [5] Nagy, S.; Telek, L.; Hall, N. T.; Berry, R. E. (1978): Potential Food Uses for Protein from Tropical and Subtropical Plant Leaves. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 26, No. 5, 1016-1028.
- [6] Denwaji, A. (1993): Amino Acid Composition of Leaf Proteins extracted from Some Aquatic Weeds. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 41, No. 8, 1232-1236.
- [7] Chiesa, S.; Gnansounou, E. (2011): Protein extraction from biomass in a bioethanol refinery – Possible dietary applications: Use as animal feed and potential extension to human consumption. Bioresource Technology 102 (2011) 427-436.
- [8] Akeson, W.R.; Stahmann, M. A. (1965): Nutritive Value of Leaf Protein Concentrate, an *In Vitro* Digestion Study. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 13, No. 2, 145-148.
- [9] Henry, K. M.; Ford, J. E. (1965): The nutritive value of Leaf Protein Concentrate determined in biological tests with rats and by microbiological methods. In: Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 16, 425-432.
- [10] Gerloff, E. D.; Lima, I. H.; Stahmann, M. A. (1965): Amino Acid Composition of Leaf Protein Concentrate. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 13, No. 2, 139-143.
- [11] Degussa AG (1996): The amino acid composition of feedstuffs.
- [12] Boisen, S. (2003): Ideal Dietary Amino Acid Profiles for Pigs. In: D'Mello, J. P. F. (Ed.): Amino Acids in Animal Nutrition, CAB International Publishing.

Autorenanschrift

Prof. Dr. Wilhelm M. Windisch
Lehrstuhl für Tierernährung
Technische Universität München
Liesel-Beckmann-Straße 6; D-85354 Freising-Weihenstephan
E-Mail: wilhelm.windisch@wzw.tum.de

Standardized ileal digestibility of amino acids of corn and wheat in young turkeys

Krzysztof Kozłowski¹, Ariane Helmbrecht², Jan Jankowski¹ and Heinz Jeroch¹

¹ University of Warmia and Mazury in Olsztyn, PL

² Evonik Degussa GmbH, Hanau, DE

Introduction

It's well known that poultry species as well as growing and adult birds of the same species differ with regard to the digestion of feed ingredients. Such differences were also observed with respect to the ileal digestibility of amino acids (Jamroz et al. 2001; Kluth and Rodehutsord 2006; Rodehutsord 2007). Kluth and Rodehutsord (2006) and Rodehutsord (2007) reported about higher ileal digestibility of amino acids from feed raw materials in broilers than in turkeys. Hence, the results obtained for broilers cannot be directly extrapolated to turkeys and the ileal digestibility of amino acids supplied by the most important feed components should be estimated in turkeys fed diets intended for fattening. Therefore, the aim of present study was to determine the ileal digestibility of corn and wheat, the most important energy sources in diets for young turkeys.

Materials and methods

The experiment was conducted in the experimental facilities of the Department of Poultry Science, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland. Corn and winter wheat were tested in this experiment. Corn contained (DM basis) 7.8, 0.4, 0.2, 0.3, 0.9, 0.2, 0.2, 0.4, 0.3, 0.1, 0.4% and wheat contained 12.9, 0.6, 0.3, 0.4, 0.8, 0.3, 0.2, 0.6, 0.3, 0.1, 0.5% of CP, Arg, Cys, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Trp, Val, respectively. The methodology applied in the study was identical as that used in previous experiments investigating the standardized ileal amino acid digestibility of feed ingredients in broilers (Lemme et al. 2004) and growing turkeys (Kozłowski et al., 2011 and 2012). The experiment comprised 18 floor pens with 15 birds per pen (a total of 270 birds). Four-week-old BUT Big 6 turkey toms were assigned to 3 treatment groups providing 6 replicates per treatment. The main components of the experimental diets were corn (treatment 1) and wheat (treatment 2). Non-specific (basal) endogenous amino acid loss after feeding a N-free diet was determined in a separate group of turkeys (6 replicates, 15 animals in each). The obtained values provided a basis for the standardization of ileal digestibility coefficients. Until the end of week 3, male BUT Big 6 turkeys received ad libitum a starter diet (commercial feed mixtures in pelleted form). Drinking water was also available ad libitum. After 7-day experimental feeding all animals were sacrificed by cervical dislocation and digesta was immediately sampled from the distal two-thirds of the intestine section between Meckel's diverticulum and 2 cm anterior to the ileo-ceca-colonic junction. The intestines were rinsed using distilled water and the contents were pooled (all within each pen), freeze-dried and subsequently analyzed for amino acid content. The analyses of amino acids and nitrogen were performed by Evonik Degussa GmbH, Germany. The calculations were conducted using the same formulas as in the previous experiments (Kozłowski et al. 2011, 2012).

Results

The standardized amino acid digestibility coefficients for corn and wheat are presented in Table 1. Investigating the standardized ileal amino acid digestibility of corn and wheat in 4-week old turkeys resulted in values different to data measured in broilers (Lemme et al. 2004). This suggests that the ileal amino acid digestibility standards developed for broilers should not be applied to turkeys. Due to the long fattening period in turkeys, further investigations are needed to determine the effect of age of birds on amino acids digestibility.

Table 1: Standardized ileal digestibility of amino acids for corn and wheat in turkeys (%)

Amino acid	Corn		Wheat	
	mean	SD	mean	SD
Arginine	96	4	92	4
Cystine	90	5	94	6
Isoleucine	95	5	95	5
Leucine	96	2	95	4
Lysine	89	7	89	7
Methionine	94	3	94	4
Phenylalanine	94	4	95	4
Threonine	82	7	87	12
Tryptophan	86	6	90	8
Valine	93	4	92	6

References

- Jamroz D, Jakobsen K, Orda J, Skorupińska J and Wiliczekiewicz A (2001) Development of gastrointestinal tract and digestibility of dietary fibre and amino acid in young chickens, ducks and geese fed diets with high amounts of barley. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 130, 643-652.
- Kluth H, Rodehutsord M (2006) Comparison of amino acid digestibility in broiler chickens, turkeys and Pekin ducks. *Poult. Sci.* 85, 1953-1960.
- Kozłowski K, Helmbrecht A, Lemme A, Jankowski J and Jeroch H (2011) Standardized ileal digestibility of amino acids from high-protein feedstuffs for growing turkeys - a preliminary study. *Arch. Geflügelk.* 75, 185-190.
- Kozłowski K, Helmbrecht A, Jankowski, J, Lemme A, Kluge H. and Jeroch H (2012) Standardized ileal amino acid digestibility (SIAAD) of wheat DDGS in male growing turkeys. *Arch. Geflügelk.* 76, 136-139.
- Lemme A, Ravindran V and Bryden WL (2004) Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. *World's Poult. Sci. J.* 60, 421-435.
- Rodehutsord M (2007) Untersuchungen zur Aminosäurenverdaulichkeit bei Geflügel unterschiedlicher Herkunft und Nutzungsrichtung. <http://www.orgprints.org/11440/>

Corresponding author

Dr. habil. 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

Untersuchung der Verdaulichkeit von in Trockenschlempe enthaltenen Nährstoffen beim Rotwild

Miroslav Vodnansky¹, Matúš Rajský² und Mária Chrenková²

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

² Institut für Tierernährung, Forschungszentrum für Nutztierhaltung, Nitra, SK

Einleitung

Mit der rasch wachsenden Produktion von Bioethanol steigen auch die Möglichkeiten zur Verwendung der als Nebenprodukt anfallenden Schlempe als Futtermittel (engl. DDGS - *Dried Distillers Grains with Solubles*). Dieses Futter wird bei der Winterfütterung des Schalenwildes noch nicht so häufig eingesetzt wie bei den Nutztieren. In der nächsten Zeit könnte jedoch die Trockenschlempe insbesondere bei der Fütterung des Rotwildes als interessante Alternative zu den herkömmlichen Futtermitteln sehr stark an Bedeutung gewinnen.

Das Ziel der Arbeit war die Ermittlung der Verdaulichkeit der bei der Gewinnung von Bioethanol aus Mais anfallenden Schlempe und Lebendgewicht Entwicklung beim Rotwild festzustellen.

Material und Methoden

Am Anfang der Versuche wurde der durchschnittliche Gehalt an Nährstoffen, einschließlich jenes von bestimmten Aminosäuren, in der Trockenschlempe von Mais (Fa. Enviral Leopoldov, Slowakei) analysiert (Tabelle 1 und 2).

Die Ermittlung der scheinbaren Verdaulichkeit von Nährstoffen beim Rotwild mit Hilfe der Differenzialmethode erfolgte während der Winterperiode (Jänner – Februar). Der Fütterungsversuch wurde mit 4 Stück Rotwild durchgeführt, die während der Untersuchungsperiode einzeln in den Stoffwechselboxen eingestellt waren (Abbildung 1). In dem ersten Experiment haben wir die Verdaulichkeit von Nährstoffen in der Futtermischung ermittelt, die aus 1.0 Kg Luzerneheu und 0.8 Kg Trockenmaisschlempe bestand. Im zweiten, nachfolgenden Experiment wurde die Verdaulichkeit von Luzerneheu als Alleinfutter (2.0 Kg/Tag/Stück) ermittelt. Daraufhin haben wir die Verdaulichkeit der Trockenschlempe berechnet. Das im Versuch verwendete Luzerneheu enthielt nach der Umrechnung auf die Trockensubstanz Rohprotein 200.24 g.kg⁻¹, Rohfaser 272.54 g.kg⁻¹, Rohfett 17.76 g.kg⁻¹, Rohasche 95.74 g.kg⁻¹, N-freie Extraktstoffe 413.72 g.kg⁻¹.

Der zweite Untersuchungsschwerpunkt war die praktische Überprüfung der Eignung dieses Futter für das Rotwild. Dabei wurde beim Rotwild in einem Versuchsgatter die geschmackliche Attraktivität dieses Futter aufgrund seiner täglichen Aufnahmen an den Futterplätzen und die körperliche Entwicklung des jungen Rotwildes (56 Stück) bis zum Alter von 15-16 Monaten. Die gesamte Futtermischung (die an den Futterplätzen dem Rotwild angebotenen Futtermittel) bestand in Umrechnung auf die Trockensubstanz aus folgenden Komponenten: Grünäsung – 74.5 %, Trockenschlempe – 10 %, Gerste – 7 %, Mais – 7 %, Mineralstoffmischung – 1.5 %.

Die Ergebnisse wurden statistisch mit ANOVA, SAS 2002, v. 1.9 ausgewertet.

Tabelle 1: Durchschnittliche Zusammensetzung der Trockenmaisschlempe (g/kg)

Nährstoff	in Frischmasse	in Trockensubstanz
Trockensubstanz	903.67	-
Wasser	96.33	-
Rohprotein	248.72	275.23
Rohfaser	77.93	86.23
Rohfett	116.57	129.00
Rohasche	44.94	49.73
N – freie Extraktstoffe	415.51	459.79
Organische Masse	858.69	950.22
Saure Detergentien Faser	149.63	161.79
Neutrale Detergentien Faser	338.90	373.18
Lignin	29.10	32.04
Ca	0.28	0.31
P	6.49	7.19
Na	2.32	2.57
K	8.45	9.41

Tabelle 2: Durchschnittlicher Gehalt an bestimmten Aminosäuren in der Trockenmaisschlempe (g/kg)

Aminosäuren	in Frischmasse	in Trockensubstanz
Asparaginsäure	14.80	16.30
Threonin	9.75	10.73
Serin	11.52	12.68
Glutaminsäure	39.11	43.06
Prolin	19.97	21.99
Glycin	9.10	10.02
Alanin	16.22	17.86
Valin	12.09	13.32
Isoleucin	8.41	9.27
Leucin	27.82	30.63
Tyrosin	9.05	9.96
Phenylalanin	12.20	13.44
Histidin	7.45	8.21
Lysin	5.21	5.73
Arginin	11.37	12.52
Methionin	4.34	4.77
Cystein	3.87	4.26

Ergebnisse

Die Trockenschlempe zeigte sich im Versuch als gut geeignete Futterergänzung für das Rotwild. Der Stickstoff-Gehalt betrug im Versuch 275.23 g.kg⁻¹ in Trockensubstanz. Im Hinblick auf die Aminosäurezusammensetzung ist jedoch der Lysingehalt mit 5.73 g.kg⁻¹ TS vergleichsweise gering. So enthält z.B. Sonnenblumen-Extraktionsschrot mit etwa 10.03 g.kg⁻¹ Lysin in TS den annähernd doppelten Wert. Der Fettgehalt ist in der Trockenmaisschlempe mit 129.00 g.kg⁻¹ TS hoch. Bedeutend ist auch der Gehalt an Phosphor (7.19 g.kg⁻¹ TS).

Die Versuchsergebnisse bei 4 Versuchstieren zeigten hohe Verdaulichkeitswerte der Trockenmaisschlempe in der Winterperiode von Januar bis Februar. Die Verdaulichkeit lag beim Rohprotein bei 78.07 %, beim Rohfett bei 94.00 %, beim Rohfaser 50.10 %, bei N-freie Extraktstoffen 78.11 % und

bei der Rohasche 47.93 %. Die metabolisierbare Energie der Trockenschlempe für das Rotwild betrug 13.05 MJ.kg^{-1} Trockensubstanz bzw. 11.79 MJ.kg^{-1} Frischsubstanz. Die Schwankungsbreite der festgestellten Verdaulichkeitswerte bei einzelnen Versuchstieren war minimal ($\text{SD} = 1.31$). Zum Vergleich: die Verdaulichkeitswerte beim Luzerneheu im Differenzialversuch betragen beim Rohprotein 76.82 %, beim Rohfaser 40.50 %, bei N – freie Extraktstoffen 75.30 % und bei der Rohasche 41.44 %.

Die weiteren Untersuchungen, deren Schwerpunkt bei der praktischen Überprüfung der Eignung der Trockenschlempe als Futter für das Rotwild lag, ergaben folgende Ergebnisse: Das durchschnittliche Körpergewicht des jungen Rotwildes im Alter 15-16 Monate erreichte bei den Hirschen 132.1 kg ($\text{SD} = 10.17$) a bei den weiblichen Tieren 115.7 kg ($\text{SD} = 8.38$).



Abbildung 1: Bilanzboxen mit Rotwild

Diskussion

Die Verdaulichkeit der Trockenmaisschlempe beim Rotwild lag bei organischer Masse bei 81.02 %. Die metabolisierbare Energie der Trockenschlempe für das Rotwild betrug 13.05 MJ.kg^{-1} Trockensubstanz a 11.79 MJ.kg^{-1} Frischsubstanz. Das korreliert gut auch mit anderen leicht verdaulichen Futtermitteln. So gibt z. B. Vodnansky et al. (2012) bei Zuckerrübenpressschnitzeln die Verdaulichkeit bei Organischer Masse 83-84 % und die metabolisierbare Energie je 1 Kg frisches Futter 3.17 MJ.kg^{-1} (umgerechnet auf 1 Kg der Trockensubstanz 11.12 MJ.kg^{-1}) an. Aus seiner Arbeit geht hervor, 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 entsteht allerdings dann, wenn sich die Nahrung innerhalb kurzer Zeit ändert. So können z.B. ein abrupter Nahrungswechsel oder eine plötzliche Einstellung der Fütterung zu Verdauungsstö-

rungen führen. Es dauert mindestens 2-3 Wochen, bis sich die Mikroorganismen im Pansen auf die neu entstandene Nahrungssituation allmählich anpassen.

Die körperliche Entwicklung des jungen Rotwildes ist sehr stark von der Aufnahme der leicht verdaulichen Nährstoffe abhängig. Im Versuch erreichte das durchschnittliche Körpergewicht des jungen Rotwildes im Alter 15-16 Monate bei den Hirschen 132.1 kg und bei den weiblichen Tieren 115.7 kg. Dies ist vergleichbar mit den Körpergewichten des Rotwildes im Vorjahr als dem Rotwild Sonnenblumenextraktionsschrot als Ergänzungsfutter gefüttert wurde. Es gab keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich der durchschnittlichen Körpergewichte des Rotwildes in den beiden Jahren. Die Verwendung der Trockenschlempe in der Futtermischung hatte keine Auswirkungen auf die Futteraufnahmen im Vergleich mit dem Vorjahr, was ein Hinweis auf ihre hohe geschmackliche Attraktivität ist.

Literatur

Vodnansky, M., Rajský, M., Foltys, V. (2012): Saisonale Unterschiede in der Verdauung des Rotwildes anhand der Untersuchung der Verdaulichkeit von in silierten Zuckerrübenpressschnitzel enthaltenen Nährstoffen. In: Tagungsband 11. BOKU - Symposium Tierernährung, Die Zukunft der Tierernährung, 20. April, 2012, Universität für Bodenkultur Wien, 134 – 137, ISBN 978-3-900962-99-9.

Autorenanschrift

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

Natugrain® TS

Entscheiden Sie sich für
die wirtschaftliche Lösung.

Natugrain®-Produkte erhöhen die Verwertung von Nicht-Stärke-Polysacchariden und vermindern deren antinutritive Effekte. Dadurch kann mit weniger Futtermiteinsatz mehr Leistungsfähigkeit erzielt werden.

Für Schweine und Geflügel.



natugrain® TS 

DAS FLEXIBLE NSP-ENZYM

BASF Nutrition – the healthy decision.

 **BASF**

The Chemical Company

Utilization of food industry by-product as a feed for rabbits

**Mária Chrenková¹, Ľubica Chrastinová¹, Zuzana Formelová¹,
Mária Poláčiková¹, Ľubomír Ondruška², Vladimír Parkányi²
and Silvia Pomykalová¹**

¹ Institute of Nutrition, Animal Production Research Centre, Nitra, SK

² Institute of Small Farm Animals, Animal Production Research Centre, Nitra, SK

Introduction

Numerous by-products originate from food industry processing in the agricultural production, which can be taken into account in rabbit feeding. Crude fibre digestibility varies from 15 to 20 % in a conventional and complete rabbit feed. The digestibility of crude fibre of various raw materials varies widely, with minimum values (5 to 10 %) observed for rough forages and by-products (hay, straw, grape marc) medium values (10 to 20 %) for lucerne meal, a few cereals (barley, oats) and their by-products (wheat bran), and higher values (20 to 40 %) for corn and soybean. Lastly, beet and citrus fruit pulp offer fibre that is particularly digestible (40 to 70 %) (Xiccato, 1996). DDGS (Dried distillers grains with solubles) is a primary by-product of ethanol production from dry milling of cereal grains.

The aim of this study was to evaluate the effect of different by-products in diets; different energy and protein content in feeds and their effect on meat production and on biochemical parameters in the digestive tract of rabbits.

Material and methods

A total of 72 ♂ weaned rabbits (35th day of age, Hycole hybrid) were divided into 3 similar groups and each group was tested individually.

In the first experimental group (24 animals) the trial was focused on growing rabbits feed with a mixture containing 41 % Lucerne meal and 12 % oats and 5 % heat treated soya in combination with 32 % of agricultural by-products and without any coccidiostatic drugs.

In the second experimental group (24 animals), complete granulated mixture with 5 % DDGS applied /100 kg feed was tested.

In the third experimental group (24 animals), complete granulated mixture with 10% DDGS applied /100 kg feed was tested.

The samples of individual feeds were analyzed for content of nutrients (Table 1) according to procedures of the AOAC (2000). The experiment lasted for 42 days until the animals attained the slaughtering weight ≈2500 kg. Body weight and feed consumption were registered weekly. In fattening experiment were studied the growth of live weight and feed intake per unit of live weight growth. The content of digestible energy (DE) was calculated by the equation of Wiseman et al. (1992). 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.

Physico-chemical characteristics in rabbit meat muscles (MLD) 24 h post mortem were determined by standard method according to the norm STN 57 0185. The samples of MLD were homogenized and analyzed for individual nutrients.

The pH at 24 hours post mortem was measured by portable pH-meter mod. Radelkis OP-109 with a combined electrode penetrating 3 mm into the MLD. Protein and fat content were estimated using an INTRATEC 1265 spectroscope and expressed in g.100g⁻¹ from these values, the gross energy value of meat samples was calculated:

$$\text{Energy value (kJ.100g}^{-1}\text{)} = (16.75 * \text{total protein content} + 37.68 * \text{total fat content}).$$

Table 1: Composition of experimental diets for rabbits

Ingredients in %	EG1	EG2	EG3	Chemical analysis in g.kg ⁻¹	EG1	EG2	EG3
Lucerne meal	41	15.2	14.5	Dry matter	885.3	904.8	895.3
Barley	0	4.5	4.3	Crude protein	164.1	171.4	178.4
Wheat bran	32	15	14	Crude fibre	171.7	173.6	146
Dried sugar beet pulp	0	10	9.5	Crude fat	33	41.4	43.5
Apple pomace	0	10	9.5	Ash	69.6	70.4	63.9
Oats	12	8	7.5	NFE	446.9	448	463.5
Dried malt sprouts	0	6	5.7	Organic matter	815.7	834.4	831.4
Olive press cakes	0	3	3	ADF	217	210.3	189.7
Sunflower meal	7	18	17	NDF	370	365.1	317.8
DDGS from maize*	0	5	10	Lys	6.8	9.1	9.3
Heat treated soya	5	0	0	Met+Cys	4.4	5.8	5.9
Rape oil	0.8	1.7	1.7	Calcium	9.3	6.7	8.2
Carob meal	0	0.6	0.3	Phosphorus	6.9	4.1	4.1
Premix**	2.2	3	3	ME (MJ.kg ⁻¹)	10.4	10.8	11.1

*Dried distillers grains with solubles from maize

**Premix contains per kg: 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) ca 9.25 g; P 6.2 g; Na 1.6 g; Mg 1.0 g; K 10.8 g; Fe 327.5 mg; Mn 80 mg; Zn 0.7 mg

The fatty acid composition of individual feeds and meat muscles MLD fat of the rabbits were determined (Metzger et al., 2006) using gas chromatograph with a flame ionization detector (FID) through the retention times of the fatty acid methyl esters (FAME) content in a standard mixture for each fatty acid. At the end of trial three animals per each group (n=3) were slaughtered in the morning. The caecal content was collected and samples were analyzed for pH and VFA (molar production of acetate, propionate, butyrate, valerate, capronate), ammonia-N concentrations and content of lactic acid). Data were subjected to two-way ANOVA. The significance of differences was evaluated by the t-test.

Results and discussion

The study was carried out in the Animal Production Research Centre, Nitra, in the Institute of Nutrition and in the Institute of Small Farm Animals. Rabbits were fed *ad libitum* and they had free access to drinking water from nipple drinkers during the experiment. Rabbits had *ad libitum* access to complete granulated diets, pellets of 3.5 mm diameter (part of cereals was replaced by by-product) and water during the test period.

The growth performance and health status (morbidity, mortality) was compared in all groups of animals. The best results were registered in group with 10% level DDGS from maize in diet (Table 2). The inclusion of different by-product into feed mixture for rabbit fattening did not negatively influence biochemical parameters and the quality of rabbit meat regardless of season and had influence on the fatty acid composition in MLD (Table 3); it indicates that DDGS from maize, dried sugar beet pulp, wheat bran, dried apple pomace and dried malt sprouts are suitable for utilization in rabbit husbandry during the whole year. All studied values in content of organic and mineral substances kept within the physiological range for the given animal species. The animals manifested no pathological findings.

Table 2: Effect of treatment on performance of rabbits

Parameter	EG1	EG2	EG3
Number of animals in groups	24	24	24
Initial weight in g	894	845	970
Live weight on 56th day of age in g	1670	1734	1815
Final weight in g	2538	2504	2612 ^{ab}
Feed conversion ratio per kg gain	3.43	3.59	3.46
Mortality (n)	1	1	2
Daily gain in g	39.14	39.51	40.24
Carcass value	59.46	59.44	59.39

^{ab}P<0.05 Significantly different**Table 3:** Physico-chemical characteristic of rabbit meat (MLD) 24 h *post mortem*

Parameter (g.100g ⁻¹)	EG1	EG2	EG3
Content of water	76.0	75.1	75.94
Total proteins	21.7	22.51	22.04
Proportional essential AA %	52.01	52.5	52.36
Proportional non essential AA %	47.99	47.5	47.64
Content of fat	1.4	1.18	1.22
Energetic value (kJ.100g ⁻¹)	417.6	409.95	411.79
pH ₂₄	5.68	5.59	5.64
Water holding capacity	32.01	34.15	29.94
Fatty acids composition (% of total fatty acids)			
SAFA	39.1	41.78	38.73
MUFA	40.84 ^C	39.12 ^C	33.13
PUFA	20.06	19.10	28.14 ^{AB}
ω6	16.78	14.95	24.28 ^{AB}
ω3	3.28	4.14 ^A	3.86
ω6:ω3	5.116 ^B	3.602	6.290 ^B

^{ab}P<0.05 Significantly different; ^{ABC}P<0.01 Significantly differentSAFA: saturated fatty acids, include C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}, C_{20:0}, C_{22:0}, C_{24:0}MUFA: monounsaturated fatty acids, include C_{16:1 n-7}, C_{18:1 n-9c}, C_{22:1}PUFA: polyunsaturated fatty acids, include C_{18:2 n-6}, C_{18:3 n-3}, C_{20:4 n-6}**Table 4:** Qualitative parameters in caecum

Parameter (n=3)	EG1	EG2	EG3
pH	6.12	5.76	5.76
N-NH ₃ (mmol.1 ⁻¹)	10.36	10.13	10.79
Lactic acid (g.100g ⁻¹)	0.056	0.036	0.036
VFA in caecum (mmol.100g ⁻¹)			
Acetic acid	5.196	4.075	4.42
Propionic acid	0.331	0.257	0.274
Butyric acid	1.58 ^b	1.0278	1.558 ^b
Other VFA	0.163	0.134	0.199

The data on volatile fatty acids (VFA) show, that the most intensive process was in the caecum of rabbits in experimental group 1 (Table 4). The content of ammonia-N affects the pH value of chyme in the caecum. The lowest pH was in the caecum of rabbits with the supplement of DDGS in mixtures. The higher concentration of acetic acid, propionic acid, butyric acid and lactic acid was in the caecum of rabbits fed with diet EG 1 in comparison to EG2 and EG3. The resulting digestibility coefficients for protein fell within the narrow range of 69.92 to 80.69 % which was similar to the data of Ondruška et

al., 2011. Fibre digestibility (23.5 - 33.1 %) and fat (77.7 - 90.8 %) and were also similar to Bielaňski and Niedźwiadek (1993). Feed mixtures differed regarding digestible energy (DE) contents i.e. crude protein, crude fibre and fat.

Table 5: Coefficient of nutrients digestibility in %

Parameter (n=5)	EG1	EG2	EG3
Crude proteins	72.1	69.8	75.6 ^{ab}
Crude fibre	23.5	30.7 ^a	33.1 ^A
Crude fat	77.7	80.0	90.8 ^{AB}
Organic matter	58.8	63.4	70.7 ^{Ab}

Differences between values in line marked by different letters (a,b) are significant on level $P < 0.05$; (AB) are significant on level $P < 0.01$

Conclusion

Based on our results we conclude:

- with increasing nutrient content and energy in feed mixture reduces the time for fattening as well as consumption of feed per unit of live weight gain
- higher content of crude fibre in mixture affects the depression index of organic matter, crude protein and fat digestibility
- higher share of amino acids in mixture has positive effect on feed intake and growth rate
- DDGS from maize are a good resource of protein and energy for rabbits. Feeding 5 % and 10 % proportion of DDGS from maize in feed mixture for rabbit fattening does not represent threat to health neither in animals nor in man after consumption of dietary and easily digestible meat produced in such way.

References

- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Chemists 17th ed. Arlington, Va, USA.
- Bielaňski, P and Niedźwiadek, S: 1993. *The use of rapeseed „00“ in complete mixtures for rabbits*. In: 8th Symposium on Housing and Diseases of Rabbits, Furbearing Animals and Fancy Pet Animals in Celle, 1993, 135-140.
- Metzger, Sz., Odermatt, M., Szendrő, Zs., Mohaupt, M., Romvári, R., Makai, A., Biró-Németh, E., Sipos, L., Rodnai, I. and P. Horn: 2006. *A study of the carcass traits of different rabbit genotypes*. World Rabbit Sci. 14, 2006, 107-114.
- Ondruška, L., Chrastinová, L., Rafay, J., POSPÍŠILOVÁ, D., Parkányi, V: 2011. *Vplyv humínových látok a probiotík na rast a produkčné ukazovatele brojlerových králikov*. In: 11. celostátní seminář Nové směry v intenzivních a zájmových chovech králiků, Praha ČR, 2011, 35-39.
- 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*. Anim. Feeds. Sci. Technol., 39, 1992, 27-38.
- XICCATO, G: 1996. *Nutrition of lactating does*. In: 6th World Rabbit Congress, Toulouse, 1996, 29-47.

Corresponding author

Ing. Mária Chrenková, PhD.
Animal Production Research Centre Nitra, Institute of Nutrition
Hlohovská 2, 949 92 Nitra, Slovakia
E-mail: chrenkova@scpv.sk

Gehalt an resistenter Stärke von österreichischen Gerstensorten und seine Beeinflussung durch eine Behandlung mit Milchsäure

Kathrin Deckardt¹, Annabella Khol-Parisini¹, Denise Stöger², Karin Binder², Martin Kreuzer², Alexander Jelinek², Jutta Werner², Heinrich Grausgruber³ und Qendrim Zebeli¹

¹ Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe, Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin, Veterinärmedizinische Universität Wien, AT

² HBLVA für chemische Industrie Rosensteingasse, Wien, AT

³ Abteilung Pflanzenzüchtung, Institut für Biotechnologie in der Pflanzenproduktion, Universität für Bodenkultur BOKU, Tulln an der Donau, AT

Einleitung

Kohlenhydrate einschließlich Stärke bilden den Hauptbestandteil in der Ernährung des Menschen und der monogastrischen Nutztiere. Auch in der Fütterung von Hochleistungswiederkäuern werden verhältnismäßig hohe Mengen an stärkehaltigen Getreiden und Leguminosen eingesetzt, um ihren hohen Bedarf an Energie leistungsgerecht zu decken. Allgemein wird Stärke in schnell verdauliche, langsam verdauliche und resistente Stärke (RS) eingeteilt. Die RS kann der Wirkung pankreatischer Amylasen standhalten und wird wiederum in vier verschiedene Typen (RS1-4) unterteilt (TOPPING und CLIFTON, 2001). Beim Menschen führt eine übermäßige Aufnahme an leicht verdaulichen Kohlenhydraten zu sogenannten Zivilisationskrankheiten wie Diabetes mellitus Typ 2 und Fettleibigkeit (ENGLYST und ENGLYST, 2005). Die Aufnahme von komplexen Kohlenhydraten in Form von RS kann diesen ernährungsbedingten Stoffwechselerkrankungen vorbeugen (TOPPING und CLIFTON, 2001). Daher gewinnt die Entwicklung gesundheitsfördernder funktioneller Nahrungskomponenten mit Ballaststoffcharakter in der Ernährung des Menschen immer mehr an Bedeutung (CROGHAN, 2003). Neueren Forschungsergebnissen zur Folge kann RS den glykämischen Index senken, indem sie die Glukosefreisetzung im Dünndarm verringert. Dies führt im Vergleich zum Verzehr verdaulicher Stärke zu einem geringeren Anstieg des postprandialen Blutglukose- und Insulinspiegels (MORRELL und MYERS 2005).

Die Fütterung von RS mit prebiotischer Wirkung hat auch in der Fütterung der monogastrischen Nutztiere wie z.B. beim Schwein an Bedeutung gewonnen (REGMI et al. 2011). Zwar wurde durch die Fütterung resistenter Stärke die Energieeffizienz der Tiere verschlechtert, andererseits aber aufgrund ihrer prebiotischen Wirkung auf die Darmmikrobiota und das Darmmilieu die Dickdarmgesundheit verbessert (REGMI et al. 2011). Auch in der Fütterung des Wiederkäuers führt eine Verlangsamung des Abbaus von Stärke im Pansen zu einer Stabilisierung des pH-Wertes und verhindert dadurch ein Ansäuern des Pansens (SILVEIRA et al. 2007). Außerdem erreichen hohe Mengen an RS unabgebaut das Duodenum und können dort bis zur Glucose abgebaut und resorbiert werden, was wiederum die netto Glucoseversorgung des Hochleistungswiederkäuers und die energetische Effizienz der Fütterung verbessert (MATTHE et al. 2000, 2001).

Die Fütterung hoher Mengen an schnell verdaulicher Stärke, wie z.B. Gerste, führt bei Wiederkäuern oft zu Verdauungs- und Stoffwechselstörungen (STONE 2004, ZEBELI et al. 2008). Unter den Getreiden wird Gerste vermehrt in der Fütterung der Nutztiere eingesetzt. Im Vergleich zu anderen Getreidearten enthält Gerste hohe Mengen an Amylopektin-Stärke, die schnell abgebaut (CAMPLING 1991, LJØKEL et al. 2003) und als nichtresistente Stärke (NRS) bezeichnet werden kann. Tatsächlich werden

im Pansen zwischen 55 und 70 % der Maisstärke, aber 80 bis 90 % der Gerstenstärke abgebaut (OFFNER et al. 2003). Aus diesem Grund werden Gerste und ähnliche Futtergetreide üblicherweise mechanisch oder thermisch bearbeitet (DEGHAN-BANADAKY et al. 2007). Auch Milchsäure wurde zuletzt eingesetzt um Gerste chemisch zu behandeln. Dabei zeigte sich, dass der Anteil resistenter Stärke durch diese Behandlung deutlich erhöht wurde. Sowohl die Gesamtkonzentration der flüchtigen Fettsäuren als auch die Inzidenz der subakuten Pansenazidose bei Kühen in der späten Laktationsphase wurde mittels dieser innovativen Getreideverarbeitungstechnologie verringert (IQBAL et al. 2009). Ziel dieser Studie war es, den Gehalt an RS und damit ihr Potenzial als gesunde Energiequelle von mehreren in Österreich angebauten Gerstensorten zu untersuchen. Außerdem wurde getestet, ob eine chemische Behandlung mit Milchsäure die Abbaubarkeit der Stärke dieser Sorten weiter modulieren kann. Im vorliegenden Manuskript werden die vorläufigen Ergebnisse dieser Forschung präsentiert, welche dann im Zuge eines Posterbeitrages auf der Tagung vorgestellt werden sollen.

Material und Methoden

Es wurden 7 Gerstensorten (Agrippina, Signora (2-zeilige-Sommer-, Braugerste), Vienna, (2-zeilige-Sommer-, Futtergerste), Eufora, Eureka, Marielle (2-zeilige-Winter-, Futtergerste), Christelle (6-zeilige Winter-, Futtergerste), sowie drei Gerstenzuchtlinien, IPZ803, IPZ824 (2-reihige, Wintergerste), und BB2R (schwarze 2-reihige Sommergerste) untersucht. Zur Behandlung der Gerste mit Milchsäure wurden 50 g der Gerstensorte Eufora für 24 oder 48 Stunden in der gleichen Menge 0,5, 1, oder 5% Milchsäurelösung bei Raumtemperatur (RT) oder bei 55 °C inkubiert. Die erhitzten Proben wurden im Folgenden entweder bei Raumtemperatur (HRT) oder bei Kühlschranktemperatur (HKT) abgekühlt. Anschließend wurden sie auf den Gehalt an resistenter und abbaubarer Stärke analysiert.

Drei zufällig genommene Proben jeder Gerstensorte und jeder behandelten Gerste wurden gemahlen (0,5-mm-Sieb) und die RS sowie die Gesamtstärke mittels des Resistant Starch Kit K-RSTAR (Megazyme, Wicklow, Irland) analysiert. Mit diesem Kit werden die Gersteproben zuerst in einem Schüttelwasserbad mit pankreatischer α -Amylase und Amyloglucosidase (AMG) für 16 Stunden bei 37°C inkubiert, dabei wird die NRS aufgeschlossen und durch die kombinierte Wirkung der beiden Enzyme zu D-Glucose hydrolysiert. Diese Reaktion wird durch die Zugabe von Ethanol abgebrochen und die RS wird als Pellet nach erfolgter Zentrifugation (10 Minuten bei 1500g) gewonnen. Dann wird das Pellet in zwei Durchgängen mit 50% v/v Ethanol gewaschen und erneut zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert und in einem Behälter für die Analyse der NRS aufbewahrt. Die RS, die sich im Pellet befindet, wird in einem Eiswasserbad unter Zugabe einer 2 molaren KOH und unter kräftigem Rühren eines Magnetrührers gelöst. Diese Lösung wird im Anschluss mit Acetatpuffer neutralisiert und die Stärke quantitativ mit AMG zu Glucose hydrolysiert. D-Glucose wird mittels des GOPOD Reagens (enthält Glucose-Oxidase/Peroxidase) gemessen und wird auch für die Bestimmung des Gehaltes an RS in der Probe herangezogen. Die Bestimmung des Gehaltes an NRS erfolgt ebenfalls mit der Messung des D-Glucose-Gehaltes mittels GOPOD, nachdem der Überstand der Proben gepoolt und auf ein Volumen von 100mL angeglichen wurde.

Weiters wurde der Gehalt an Rohprotein, Rohfett und NDF (Weender und van Soest-Methode) und der Energiegehalt (Kalorimetrie) der Gersteproben ermittelt.

Ergebnisse und Diskussion

Der höchste RS-Gehalt wurde für die zwei IPZ-Linien und die Sorte Vienna beobachtet, hier war RS im Vergleich zu den anderen Genotypen 2- bis 3-fach erhöht. Die chemische Zusammensetzung der Gerstensorten (insb. Rohprotein und NDF) war ebenfalls unterschiedlich.

Einfluss der Gerstensorte auf den Anteil resistenter Stärke

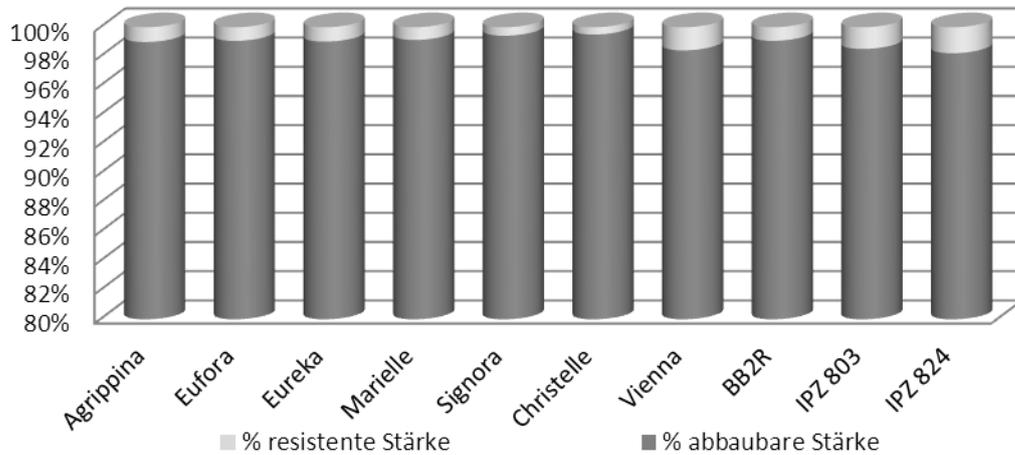


Abbildung 1: Darstellung der Anteile an RS und NRS verschiedener Gerstensorten

Einfluss der Milchsäurebehandlung von Gerste auf den Anteil resistenter Stärke

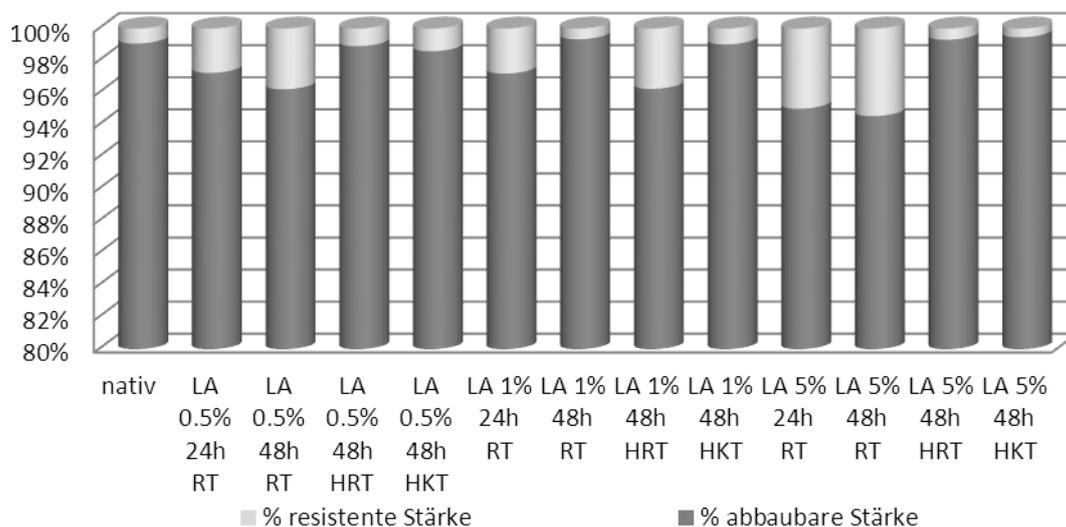


Abbildung 2: RS und NRS der Gerstensorte Eufora nach Milchsäurebehandlungen für 24 bzw. 48 Stunden bei Raumtemperatur (RT), sowie die Behandlung mit Milchsäure und Hitze (55°C) für 48 Stunden und Abkühlung bei Raumtemperatur (HRT) bzw. Kühlschranks-temperatur (HKT)

Die Behandlung mit Milchsäure beeinflusste den Gehalt an RS erheblich. Im Vergleich zur Kontrolle (unbehandelte Gerste) erhöhte sich der Gehalt an RS durch die Behandlung mit 5%iger Milchsäure für 48h bei RT um das 5-fache und kann aus diesem Grund als die vielversprechendste Methode angesehen werden, jedoch erbrachte auch die Verwendung von nur 0,5%iger Milchsäure bereits Erfolge. In der vorliegenden Studie konnte Gerste auch ohne die energieaufwendige Verwendung von Hitze effi-

zient bearbeitet werden. Durch die gute Verträglichkeit der Milchsäure für Tier, Mensch und Umwelt, sowie durch die energiesparenden und einfachen Anwendungsmöglichkeiten ergibt sich ein großes Zukunftspotential dieser Behandlungen für die Praxis. Der weiteren Optimierung des Verfahrens sowie der Frage nach den zugrundeliegenden Wirkmechanismen muss noch einiges an Forschungsarbeit gewidmet werden.

Schlussfolgerungen

Hinsichtlich des RS-Gehaltes und des Futterwertes zeigen die Ergebnisse dieser Studie deutlich, dass Gerste nicht gleich Gerste ist. Es wurden signifikante Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der verschiedenen Sorten beobachtet, die Konsequenzen hinsichtlich ihres Nährwertes und Auswirkungen auf die Tiergesundheit mit sich bringen könnten. Die Behandlung der Gerste mit Milchsäure zeigt vielversprechende Ergebnisse, die aber erst durch *in vivo*-Studien bestätigt werden müssen bevor endgültige Aussagen gemacht werden können.

Danksagung

Das Projekt wurde von der H. Wilhelm Schaumann Stiftung (Hamburg, Deutschland) sowie von „Sparkling Science“, einem Forschungsprogramm des österreichischen Bundesministeriums für Wissenschaft und Forschung unterstützt.

Literatur

- CAMPLING, R.C., 1991. Processing cereal grains for cattle: a review. *Livest. Prod. Sci.* 28, 223-234.
- CROGHAN, M. (2003): Resistente Stärke als funktioneller Bestandteil von Lebensmitteln. *Ernährungs-Umschau* 50:65-67.
- DEHGHAN-BANADAKY, M., CORBETT, R., OBA, M., 2007. Effects of barley grain processing on productivity of cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137, 1-24.
- ENGLYST, K.N.; ENGLYST, H.N. (2005): Carbohydrate bioavailability. *Br J Nutr* 94:1-11.
- IQBAL, S., ZEBELI, Q., MAZZOLARI, A., BERTONI, G., DUNN, S.M., YANG, W.Z., AMETAJ, B.N., 2009. Feeding barley grain steeped in lactic acid modulates rumen fermentation patterns and increases milk fat content in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 6023-6032.
- LJØKEL, K., HARSTAD, O.M., PRESTLØKKEN, E., SKREDE, A., 2003. *In situ* digestibility of starch in barley grain (*Hordeum vulgare*) and peas (*Pisum sativum* L.) in dairy cows: influence of heat treatment and glucose addition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 105, 105-116.
- MATTHE, A., LEBZIEN, P., FLACHOWSKY, G., 2000. On the relevance of bypass-starch for glucose supply of high-producing dairy cows. *Übers. Tierernährg.* 28, 1-64.
- MATTHE, A., LEBZIEN, P., HRIC, I., FLACHOWSKY, G., SOMMER, A., 2001. Effect of starch application into proximal duodenum of ruminants on starch digestibility in the small and total intestine. *Arch. Anim. Nutr.* 55, 351-369.
- MORRELL, M.K.; MYERS, A.M. (2005): Towards the rational design of cereal starches. *Curr Opin Plant Biol* 8:204-210.
- OFFNER, A., BACH, A., SAUVANT, D., 2003. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106, 81-93.
- REGMI, P.R.; METZLER-ZEBELI, B.U.; GÄNZLE, M.G.; VAN KEMPEN, T.A.; ZIJLSTRA, R.T. (2011): Starch with high amylose content and low *in vitro* digestibility increases intestinal nutrient flow and microbial fermentation and selectively promotes bifidobacteria in pigs. *J Nutr* 141:1273-1280.
- SILVEIRA, C., OBA, M., YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A., 2007a. Selection of barley grain affects ruminal fermentation, starch digestibility, and productivity of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 2860-2869.
- STONE, W.C., 2004. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87 (E. Suppl.), E12-E26.
- TOPPING, D.L.; CLIFTON, P.M. (2001): Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev* 81:1031-1064.

ZEBELI, Q., DIJKSTRA, J., TAJAJ, M., STEINGASS, H., AMETAJ, B.N., DROCHNER, W., 2008. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. J. Dairy Sci. 91, 2046-2066.

Autorenanschrift

Univ.-Prof. Dr.sc.agr. Qendrim Zebeli
Institut für Tierernährung und Funktionelle Pflanzenstoffe
Veterinärmedizinische Universität Wien
Veterinärplatz 1; 1210 Wien
T +43-1-25077-3200; F +43-1-25077-3290
E-Mail: qendrim.zebeli@vetmeduni.ac.at

Neubewertung von Nebenprodukten der Mehlmüllerei

Martin Schäffler, Karl Rutzmoser, Hermann Lindermayer und Wolfgang Preißinger

Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, DE

Einleitung

In Bayern werden jährlich nahezu 1,3 Mio. t Brotgetreide vermahlen. Davon sind rund 1,1 Mio t Weizen und fast 200.000 t Roggen. Bei einer mittleren Mehlausbeute von 80 % fallen bei der Vermahlung rund 250.000 t Mühlennachprodukte an. Diese sind für den menschlichen Verzehr kaum geeignet und werden seit alters her mit Erfolg in der Nutztierfütterung verwertet. Bei Schweinen kommen dabei hauptsächlich Kleien als Rohfaserträger zum Einsatz.

Untersuchungen zum Futterwert von Mühlennachprodukten liegen bereits einige Jahre zurück. Da die Qualität dieser Fütterungskomponenten unter anderem vom Mahlprozess aber auch von den Verzehrsgewohnheiten (Trend zu Vollkornbrot) abhängig ist, wurden neuere Untersuchungen mehr als überfällig.

Material und Methoden

In die Untersuchung wurden bayernweit ca. 100 Feldproben von Mühlennachprodukten einbezogen. Dabei handelte es sich um Nachmehle, Futtermehle, Grießkleien und Kleien aus Weizen und Roggen. Die Abgrenzung und Einteilung der Müllereinebenerzeugnisse erfolgte nach folgendem Differenzierungsverfahren anhand des Stärke- und Rohfasergehaltes sowie den Vorgaben der Positivliste für Einzelfuttermittel und des Futtermittelrechts (Tabelle 1).

Tabelle 1: Abgrenzung und Einteilung der Müllereinebenerzeugnisse

Weizen-, Roggennachmehl	Stärke mindestens 44 %
Weizenfuttermehl	Stärke mindestens 34 %
Roggenfuttermehl	Stärke mindestens 32 %
Weizen-, Roggengrieskleie	Stärke mindestens 17 %
Roggengrieskleie	Rohfaser maximal 7 %

Die Futteranalysen (Weender, Stärke/Zucker, Aminosäuren, Mineralstoffe) wurden im Futtermittellabor Grub der Bayer. Landesanstalt für Landwirtschaft durchgeführt. Die Schätzung der dünndarmverdaulichen Aminosäuren erfolgte wie von Rutzmoser et al. (2009) beschrieben.

Die Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe wurden mit 2 x 2 männlichen kastrierten Tieren im cross-over-Design an Mastschweinen im Differenzversuch in der Stoffwechselanlage Grub des Institutes für Tierernährung und Futterwirtschaft ermittelt. Die Versuche gliederten sich in 7 Tage Vorperiode und 7 Tage Sammelperiode. Die Versuchsdauer betrug 2 x 14 Tage.

Im Rahmen des Qualitätssicherungssystem „QS“ wurden die Kleien von jeder Mühle nach festgelegten Prüfplänen auf unerwünschte Stoffe untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Beim Mahlvorgang des Kornes werden die Inhaltsstoffe in Mehl und Nachprodukte gezielt aufgetrennt. In Tabelle 2 ist die Aufteilung von 1000 kg Mahlweizen zu Mehl Type 550 und Mahlroggen zu Type 1150 sowie zu verschiedenen Nachprodukten beschrieben.

Bei der Vermahlung wird vor allem Stärke angereichert, während Rohfaser und Rohasche im Mehl gegenüber dem Mahlgetreide verringert sind (siehe Tabelle 3). Im Weizenmehl ist etwas weniger Rohprotein als im Getreide enthalten. Beim proteinärmeren Roggen verändert sich der Rohproteingehalt nur geringfügig. In den bei der Vermahlung vom Korn abgetrennten, schalenreichen Nachprodukten finden sich verstärkt Rohasche und Rohfaser.

Für die Fütterung von Schweinen sind die in den Tabellen 4 und 5 angeführten Rohnährstoffe sowie die Aminosäure- und Mineralstoffgehalte bedeutsam. In den umfangreichen Untersuchungen wurden die bekannten Werte der DLG-Tabellen (DLG, 1991) weitgehend bestätigt. Die Zuordnung der Nachprodukte erfolgt nach ihrem Stärkegehalt wie in der Positivliste beschrieben. Der Energiegehalt in MJ ME ist für die Schweinefütterung angeführt. Da Stärke hochverdaulich ist, sinkt mit dem Stärkegehalt auch der Energiegehalt vom Nachmehl bis zur Kleie. Die Gehaltswerte von Nachprodukten können in weiten Bereichen schwanken und hängen vor allem von der angestrebten Mehlausbeute, der ermahlenen Hauptmehltype (z.B. Type 405 oder Type 550) und dem Rohprotein im Getreide ab.

Aus Tabelle 6 geht hervor, dass in den Analysen eines ganzen Jahres keine überhöhten Werte an unerwünschten Stoffen aufgetreten sind. Mit dem Mehl werden Nahrungsmittel gewonnen, die hohe hygienische Anforderungen an die Ausgangsware Brotgetreide stellen. Deshalb sind einwandfreie Nebenerzeugnisse die Regel, selbst wenn an der Schale anhaftende Stoffe vermehrt in die Kleie gelangen.

Tabelle 2: Auftrennen von Menge und Inhaltsstoffen von Mahlgetreide (kg/1000 kg Mahlgetreide)

	Menge	Stärke	Rohfaser	Rohprotein	Rohasche
Mahlweizen	1000	617	20	136	14,2
Weizenmehl	800	572	4,4	104	4,3
Nachprodukte	200	45	15,6	32	9,9
Nachmehl	40	19	0,8	6,4	1,2
Grieskleie	60	13	4,8	9,6	3,0
Kleie	100	13	10	16	5,7
Mahlroggen	1000	563	20	105	14
Roggenmehl	880	537	13	88	9,2
Grieskleie	120	26	7	17	4,8

Tabelle 3: Gehalte an Stärke und Rohnährstoffen in Mahlgetreide und Mehl (Angaben bei 88 % T)

	Mahlweizen	Weizenmehl	Mahlroggen	Roggenmehl
Stärke	615	715	560	610
Rohfaser	25	5,5	20	15
Rohprotein	140	130	105	100
Rohasche	15	5,4	15	10,5

Tabelle 4: Wesentliche Inhaltsstoffe der Mühlennachprodukte aus Weizen (Angaben bei 88 % T)

		Nachmehl	Futtermehl	Grießkleie	Kleie
Rohasche	g	30	35	49	57
Rohprotein	g	160	160	160	160
Rohfett	g	40	40	40	38
Rohfaser	g	20	40	80	100
NfE	g	630	605	551	525
Stärke	g	480	370	215	130
ME	MJ	14,2	12,7	10,6	8,7
Kalzium	g	0,8	1,1	1,2	1,6
Phosphor	g	6,5	7,1	9,1	11,4
verdaul. Phosphor	g	4,2	4,6	5,9	7,4
Lysin	g	6,4	6,4	6,4	6,4
Met+Cys	g	5,6	5,6	5,6	5,6
dv Lysin	g	5,6	4,9	4,4	3,9
dv Met+Cys	g	4,7	4,4	4,3	4,1

Tabelle 5: Wesentliche Inhaltsstoffe der Mühlennachprodukte aus Roggen (Angaben bei 88 % T)

		Nachmehl	Futtermehl	Grießkleie	Kleie
Rohasche	g	28	32	40	53
Rohprotein	g	136	152	140	143
Rohfett	g	28	31	33	32
Rohfaser	g	22	33	58	73
NfE	g	666	632	609	579
Stärke	g	415	331	220	113
ME	MJ	13,7	12,2	10,3	9,5
Kalzium	g	0,8	1,1	1,5	1,5
Phosphor	g	4,6	8,1	9,9	9,9
verdaul. Phosphor	g	3,0	5,3	6,5	6,5
Lysin	g	5,0	5,1	5,1	5,2
Met+Cys	g	5,2	5,4	5,4	5,5
dv Lysin	g	4,1	3,7	3,0	3,1
dv Met+Cys	g	4,3	4,2	3,9	4,0

Tabelle 6: Kleien im Qualitätssicherungssystem „QS“

Untersuchung auf	Anzahl Proben		Ergebnis
Salmonellen	23		n.n.
Tierische Bestandteile	13		n.n.
DON	18		0,39 mg/kg
ZEA	14		26 µ/kg
Schwermetalle	11	Blei Cadmium Quecksilber Arsen	< 0,10 mg/kg 0,125 mg/kg 0,08 mg/kg < 0,10 mg/kg
Pflanzenschutzmittel	13		< 0,01 mg/kg
Dioxinähnliche PCB	7		0,030 ng/kg
Dioxine	7		0,09 ng/kg

Schlussfolgerungen

Bei den Mühlennachprodukten gibt es große Spannbreiten vor allem im Gehalt an Stärke, Rohfaser und Energie von der Kleie bis zu den Nachmehlen mit großen Unterschieden auch innerhalb der Futtermittelgruppen. Weiter sind Unsicherheiten der Deklaration seitens der Anbieter möglich. Deshalb sind unter dem Prinzip der Qualitätssicherung regelmäßige, aussagekräftige Futteruntersuchungen angebracht, vor allem bei größeren Partien oder bedeutsamen Anteilen von Mühlennebenerzeugnissen in der Mischung, aber auch bei der jährlich neuen Ernte nach Umstellungen im Ablauf in der Mühle.

Das Ziehen von echt repräsentativen Proben, richtig beschriftete Probenbeutel und Begleitzettel und ein klarer Untersuchungsauftrag sind entscheidende Bedingungen für verwertbare Ergebnisse.

Die umfassende Kenntnis des wahren Futterwertes von Mühlennebenerzeugnissen ist Voraussetzung für den erfolgreichen Einsatz in der Tierfütterung und die dauerhafte Zufriedenheit aller beteiligten Marktpartner.

Nebenerzeugnisse der Müllerei werden vorzugsweise an Schweine verfüttert. Aufgrund des höheren Energie- und geringen Rohfasergehaltes bieten sich Futtermehle (und Nachmehle) für Mast Schweine oder säugende Sauen an. Dagegen passen die energiearmen und rohfaserreichen Grießkleien und Kleien fast ideal für die Verfütterung an tragende Zuchtsauen.

Literatur

DLG, 1991: DLG-Futterwerttabellen –Schweine, 6., erweiterte und völlig neu gestaltete Auflage, DLG-Verlag Frankfurt am Main.

Rutzmoser, K.; H. Linder Mayer, G. Propstmeier 2009: Schätzung der Dünndarmverdaulichkeit von Aminosäuren und Anwendung in einem Fütterungsversuch mit Ferkeln. In: Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda 2009, Herausgeber: Verband der Landwirtschaftskammern, Bonn, 115-118

Zentralausschuss der deutschen Landwirtschaft (ZDL), 2012: Positivliste für Einzelfuttermittel, 10. Auflage 2012

Autorenanschrift

Martin Schäffler
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
Prof.-Dürrwachter-Platz 3; D-85586 Poing-Grub
E-Mail: martin.schaeffler@LfL.bayern.de

Fichtennadelpulver – altes Futtermittel neu entdeckt

Astrid Bosse

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

Einleitung

Die Fichte wurde in vergangenen Jahrhunderten zur Fütterung und Gesunderhaltung der Tiere genutzt. Hierzu wurden beim Holzeinschlag die Äste und Zweige geerntet, getrocknet und aufgemahlen. Die so aufbereiteten Nadeln wurden anschließend mit Getreideresten oder Heu/Strohhäckseln vermischt und verfüttert. Aber nicht nur die Nadeln allein, sondern auch die kompletten Fichtenäste wurden teilweise pur oder nach Aufhacken als Reisig zusammen mit dem Kraftfutter verfüttert. Aus der traditionellen Fütterung sind die Fichtennadeln bekannt für einen positiven Einfluss auf die Verdauung und eine Steigerung des Appetits (Vogl-Lukasser et al. 2006). Seit dem Verbot von antibiotischen Leistungsförderern im Jahr 2006 ist die Futtermittelindustrie auf der Suche nach alternativen Futterzusätzen. Die Beobachtungen und Wege aus der traditionellen Fütterung liefern interessante Ansätze für einen modernen Futterzusatz.

Fichtenzweiggrünmehl

Mit ARBOCEL® Green Performance wird das Wissen um die Wirkung der Fichtennadeln mit dem des Rohfaserkonzentrates (RFK) – Lignocellulose verbunden.

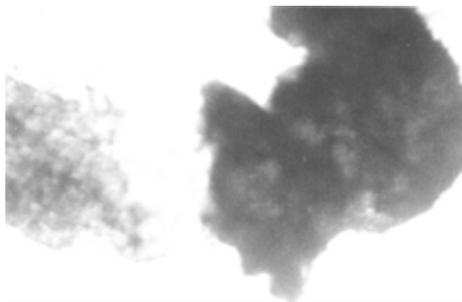


Abbildung 1: Weizenkleie (50x Vergrößerung)

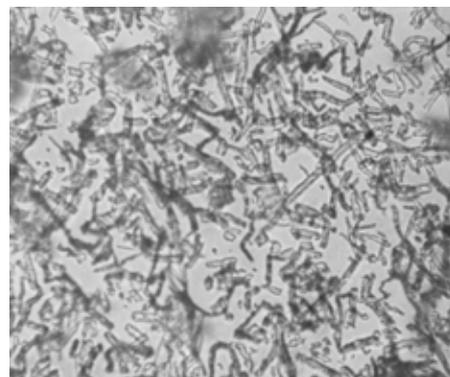


Abbildung 2: RFK ARBOCEL® (50x Vergrößerung)

Lignocellulose wird im Futtermittelhandel unter dem Begriff "Rohfaserkonzentrat" (RFKs) angeboten. Es handelt sich hier um Faserquellen mit einem Rohfasergehalt von >70% i.TM. Bei der Herstellung dieser RFKs werden einheimische Fichtenhölzer (*Picea abies*) durch spezielle Mühlentechnologie feinst auffibrilliert (siehe Abbildung 2) und es entsteht ein sehr homogenes Endprodukt. Daher können RFKs im Vergleich zu handelsüblichen Rohfaserträgern, wie Weizenkleie (siehe Abbildung 1), auch als funktionale Fasern bezeichnet werden. Ein solches RFK stimuliert die Mikrovilli im Darm, verfügt über ein sehr hohes Wasserbindungsvermögen und bildet im Chymus ein Fasernetzwerk aus. Standardmäßig werden RFKs bereits in den Rationen verschiedener Heim- und Nutztiere eingesetzt. Der Vorteil von

RFKs gegenüber den üblichen Rohfaserquellen liegt auf der Hand. RFKs sind standardisiert, hochkonzentriert, hygienisiert und bedeuten kein zusätzliches Mykotoxinrisiko in der Ration.

Die verdauungsstabilisierenden Eigenschaften der Lignocellulose kombinieren sich hervorragend mit den ätherischen Ölen der Fichtennadel. Ätherische Öle sind sekundäre Inhaltsstoffe der Pflanze, die nicht für den Primärstoffwechsel entscheidend sind (Wald 2003), sondern dazu dienen z.B. Insekten zur Bestäubung anzulocken und sich gegen Krankheiten oder Schädlinge zu schützen. Das ätherische Öl der Fichtennadel besteht hauptsächlich aus Monoterpenen. Diese stellen mit einer Konzentration von 1-3 mg/g Nadelfrischmasse einen wichtigen ökologischen Bestandteil der Fichte (Schönwitz et al. 1990) dar. Ätherische Öle wirken antiseptisch, entzündungshemmend und antioxidativ (Windisch et al. 2007). Des Weiteren verfügen sie über starke Aromaeffekte. In der Tierernährung werden solche Eigenschaften genutzt um die Futteraufnahme zu steigern bei gleichzeitiger Stabilisierung des Verdauungstraktes.

Daher sollte die Wirkung des Fichtenzweigpulvers ARBOCEL® Green Performance auf die Futteraufnahme und Verdaulichkeit bei Absetzferkeln untersucht werden.

Fütterungsversuch mit Absetzferkeln

An der Martin-Luther Universität in Halle-Wittenberg wurde ein Versuch mit Ferkeln durchgeführt (Müller, 2011) um die Wirkung von Fichtenzweigpulver näher zu beleuchten. In einem Versuch über einen Zeitraum von 28 Tagen wurden 36 männliche Absetzferkel mit einem Ferkelaufzuchtfutter gefüttert, welches mit 0% (Kontrolle), 0,5% oder 1,0% ARBOCEL® Green Performance versetzt worden war. Während des Versuches wurde Futteraufnahme, Gewichtsentwicklung und Futterverwertung erfasst (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Einfluss von Fichtenzweigpulver auf Leistungsparameter

	Kontrolle	0,5 % ARBOCEL® Green Performance	1,0 % ARBOCEL® Green Performance
Futteraufnahme (g)	748,92±9,03	762,71±8,68	775,96±9,61
Gewichtszunahme (g)	530,21±9,75	543,42±15,68	539,92±13,36
Futterverwertung	1,41	1,40	1,44

Der Zusatz von Fichtenzweigpulver bewirkte leicht verbesserte Futteraufnahme und Zunahmen und damit leicht höhere Endgewichte der Ferkel im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Trotz einer verbesserten Futteraufnahme und besserer Gewichtsdaten, lag die Futterverwertung in den Versuchsgruppen jedoch höher als in der Kontrollgruppe. Die Unterschiede in der Futterverwertung waren nicht signifikant.

Da es sich bei den o.g. Leistungsparameter nur um reine Wägedaten handelt, die durch z.B. Futterverstreue beeinflusst werden können, wurde im Rahmen des Versuches bei zwei Tieren je Versuchsgruppe eine Verdaulichkeitsbestimmung in Woche zwei und drei durchgeführt. Zu diesem Zweck enthielt die Ration den inerten Marker Titandioxid. Die Bestimmung der TiO₂-Konzentration in der Diät und im Kot erlaubt dann die Kalkulation der scheinbaren Verdaulichkeit der einzelnen Rohnährstoffe.

Tabelle 2: Einfluss von Fichtenzweigpulver auf die Nährstoffverdaulichkeit

	Kontrolle	0,5 % ARBOCEL® Green Performance	1,0% ARBOCEL® Green Performance
Rohprotein XP (%)	75,8 ^a	79,7 ^b	80,9 ^b
Rohfett XL (%)	57,5 ^a	66,7 ^b	66,9 ^b

Unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede in einer Reihe ($p < 0,05$)

Im Gegensatz zu den Wägedaten konnten die ermittelten Werte für die scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe deutlich besser die bestehenden Unterschiede in den Endgewichten der Tiere erklären. Für alle Rohnährstoffe konnte durch den Zusatz von ARBOCEL® Green Performance eine signifikante Steigerung der Verdaulichkeit im Vergleich zur Kontrollgruppe erzielt werden. Tabelle 2 zeigt die Verdaulichkeit von Rohprotein (XP) und Rohfett (XL). Der Zusatz von 1,0% führte zwar zu einer numerischen Steigerung der Verdaulichkeit, diese konnte jedoch nicht signifikant abgesichert werden.

Schlussfolgerung

Es konnten insgesamt positive Effekte des traditionellen Fichtenzweigpulvers ARBOCEL® Green Performance auf die Zunahmen der Ferkel und insbesondere auf die Verdaulichkeit der Nährstoffe ermittelt werden. Dieses traditionelle Futtermittel eignet sich somit für den Einsatz in der modernen Tierernährung. Die positive Wirkung des Produktes sollte jedoch mit größeren Tierzahlen und unter Praxisbedingungen weiter untersucht werden.

Literatur

Müller AS (2011): Erprobung Fichtennadelgrünmehlpräparation; Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg (persönliche Korrespondenz)

Schönwitz R., Kloos M., Merk L. und Ziegler H. (1990): Patterns of monoterpenes stored in the needle of *Picea abies* (L.) Karst. From several locations in mountainous regions of southern Germany. *Trees* 4: 27-33

Vogl-Lukasser B., Vogl Ch. R., Bizah M., Grasser S., Bertsch Ch. (2006): Lokales Erfahrungswissen über Pflanzenarten aus Wildsammlung mit Verwendung in der Fütterung und als Hausmittel in der Volksheilkunde bei landwirtschaftlichen Nutztieren in Osttirol. BOKU PJ Nr. 1272

Wald Ch. (2003): Gewürze & Co. – eine Übersicht. *Lohmann Information* 3/2003 S. 1-5

Windisch W., Schedle K., Plitzner C. und Kroismayr A. (2008): Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J Anim Sci* 86: E140-E148

Autorenanschrift

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

Aquatische Biomasse als Futter für Mollusken in der Aquakultur: Pilotstudie zur Messung von Nährstoffverdaulichkeiten am Tiermodell der Posthornschnecke (*Planorbarius corneus*)

Emanuel Fischbacher^{1,2}, Jürgen Geist² und Wilhelm Windisch¹

¹ Lehrstuhl für Tierernährung, WZW, Technische Universität München, DE

² Lehrstuhl für Aquatische Systembiologie, WZW, Technische Universität München, DE

Einleitung

Durch die Zunahme der Weltbevölkerung und dem wachsenden Wohlstand in vielen Ländern steigt der globale Konsum von Lebensmitteln, insbesondere von tierischen Produkten. Um diesen Bedarf decken zu können, ist man weltweit auf der Suche nach alternativen Futtermitteln und innovativen Lebensmitteln. Eine grundsätzliche Möglichkeit der Gewinnung neuer Futtermittel wäre die Ausweitung des Futtermittelanbaus von der terrestrischen Landwirtschaft in die Aquakultur. Tatsächlich hat der Anbau pflanzlicher bzw. pflanzenähnlicher Biomassen in der marinen Aquakultur längst Einzug erhalten. So lag die weltweite Produktion von aquatischen Pflanzen im Jahr 2010 bei etwa 19 Millionen Tonnen. Davon stellen Makroalgen (Seetang) den überwiegenden Teil dar, allem voran die Rotalgen mit knapp 9 Millionen Tonnen [1]. Die Makroalgen finden vor allem in der asiatischen Küche sowie in der Biotechnologie und Kosmetikindustrie Verwendung. Makroalgen bestehen jedoch überwiegend aus Nicht-Stärke-Polysacchariden, deren Struktur sich von terrestrischen Pflanzen zum Teil stark unterscheidet. Dies schränkt ihre potenzielle Verwertung als Futtermittel für konventionelle terrestrische Nutztiere sowie für Fische in der hocheffizienten Aquakultur (z.B. Lachs- und Forellenproduktion) erheblich ein. Demgegenüber findet man in der freien Natur auf Makroalgen sehr häufig Mollusken (z.B. Schnecken, Muscheln), die diese Biomasse offenbar effizient nutzen können. Einige dieser Schnecken sind sogar hochbezahlte Delikatessen in der asiatischen Küche mit sehr schmackhaftem Fleisch (z.B. *Haliotis*, auch Seeohren, Meerohren oder Abalone genannt). Demzufolge bieten Mollusken das grundsätzliche Potenzial für eine neue Klasse an Nutztieren, über welche man die in der konventionellen terrestrischen und aquatischen Tierproduktion kaum verwertbare Biomasse der Makroalgen in essbare Lebensmittel bzw. hochwertige Futtermittel transformieren könnte. Über das Verdauungspotenzial von Mollusken existieren jedoch so gut wie keine quantitativen Daten. Aus diesem Grunde sollte in der vorliegenden Pilotstudie am Modell der Posthornschnecke (*Planorbarius corneus*) die Nährstoffverdaulichkeit ausgewählter Futtermittel in einem Fütterungsversuch erstmals experimentell quantifiziert werden.

Material und Methoden

Die Fütterungsversuche wurden an *Planorbarius corneus* durchgeführt. Hierzu wurden insgesamt 105 Schnecken aus einem Zoogeschäft bezogen. Diese hatten einen mittleren Gehäusedurchmesser von $31,6 \pm 3,0$ mm und waren damit bereits relativ alt.

Die Tiere wurden gleichmäßig auf 4 separate Aquarien mit jeweils 12 Liter Leitungswasser verteilt. Die Wassertemperatur im Versuchsverlauf wurde auf $19,9 \pm 0,6$ °C eingestellt, was für *P. corneus* optimal ist. Das Wasser in den Aquarien wurde ununterbrochen belüftet und 33 % des Wasservolumens täglich erneuert.

In der vorliegenden Untersuchung wurden drei Typen an Futtermitteln eingesetzt, ein handelsübliches, pelletiertes Forellenfuttermittel („F-Vitalis“, Skretting, Stavanger, Norwegen), getrocknete Rotalgenblätter sowie Blätter von Kopfsalat. Das Fischfutter bestand laut Angaben des Herstellers aus Fischmehl, Weizenkleber, Weizen, Fischöl, Sojaextraktionsschrot aus geschälter Saat (dampferhitzt) und Ackerbohnen. Die getrockneten Rotalgenblätter wurden aus einem Asiashop gekauft und entsprachen den typischen Suppenbeilagen der fernöstlichen Küche. Der Kopfsalat wurde auf dem Wochenmarkt jeweils frisch gekauft und für 3 bzw. 4 Tage im Kühlschrank zwischengelagert.

Die analysierten Rohnährstoffgehalte in der Trockenmasse der drei Typen von Futtermitteln sind in Tabelle 1 dargestellt. Das Fischfutter zeigte die typischen Werte für ein eiweißreiches, energiebetontes (fettreiches) Futter für Forellen. Rotalgen waren ebenfalls relativ reich an Rohprotein und enthielten erhebliche Mengen an Hemicellulose, während Salatblätter relativ viel Rohfaser bzw. Cellulose aufwiesen.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Futtermittel in der Trockenmasse (TM)

Anteil an der TM	Fischfutter-pellets	Rotalgen-blätter	Salat-Blätter
TM (%)	93,4	91,8	4,9
XP (%)	45,8	35,6	14,8
TL (%)	16,3	2,8	3,3
NfE (%)	24,1	46,9	54,9
XF (%)	4,8	5,8	15,8
XA (%)	9,0	8,9	11,3
Hemicellulose (%)	20,5	22,5	3,5
Cellulose (%)	4,5	2,3	12,4
Lignin (%)	0,0	0,0	0,0
Bruttoenergie (kJ/g)	21,4	18,3	16,6

Unmittelbar nach Belegung der Aquarien wurden die Tiere einer 7-tägigen Eingewöhnungsprozedur unterzogen. Tag 1 bestand aus Nahrungskarenz, an Tag 2 bis 5 wurde pro Aquarium täglich 1 g Fischfutter vorgelegt und eventuelle Reste am darauffolgenden Tag entfernt. Am Tag 6 und 7 wurden die Tiere erneut auf Futterentzug gehalten.

Unmittelbar nach der Eingewöhnung begann der 31-tägige Fütterungsversuch. Die Tiere wurden individuell markiert, gewogen und mit möglichst gleicher Gewichtsverteilung vier Gruppen zugeordnet. Drei dieser Gruppen wurden in die Aquarien verbracht und für die folgenden 31 Tage mit den drei vorbereiteten Futtermitteln gefüttert („Fischfutterpellets“, „Rotalgenblätter“, „Salatblätter“). Die vierte Schnecken­gruppe diente als „Nullgruppe“ zur Messung der Veränderungen des Nährstoffansatzes im Ganzkörper der anderen drei Tiergruppen. Hierzu wurden die Tiere der Nullgruppe getötet, die Weichteile vom Schneckenhaus getrennt und für spätere Analysen bei -20 °C tiefgefroren gelagert. Die Kennzahlen der vier Tiergruppen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Kenn­daten der Tiergruppen zu Versuchsbeginn

	Null-gruppe	Fischfutter-pellets	Rotalgen-blätter	Salat-blätter
Anzahl Tiere	26	27	26	26
Mittlere Lebendmasse der Tiere (g)	4,41±1,05	4,47±1,19	4,43±1,05	4,36±1,02
Summe der Lebendmassen im Aquarium (g)	114	121	115	114

Die Fütterung der Tiere in den Aquarien erfolgte täglich. Zunächst wurden die zurückgebliebenen Futterreste und der angefallene Kot des Vortages aus den Aquarien gesammelt, gewogen und dann das frische Futter zugegeben. Die Futterreste und der Kot der ersten zwei Tage wurden verworfen. Ab dem dritten Tag wurde dieses Material, getrennt nach Aquarium, fortlaufend gesammelt und tiefgefroren bei -20 °C zwischengelagert. Am Ende des Fütterungsversuchs (Tag 31) wurden die kumulierten Proben getrocknet (Futterreste: Trockenschrank, 65 °C; Kot: Gefriertrocknung).

Nach dem Fütterungsversuch durchliefen die verbliebenen Tiere erneut eine Nahrungskarenz von zwei Tagen. Anschließend wurden sie wie die Nullgruppe getötet und die Weichteile vom Gehäuse getrennt. Die Weichteile aller Tiergruppen inklusive der Nullgruppe wurden auf die Gehalte an Trockenmasse, Rohprotein und Gesamtfett nach VDLUFA-Methoden analysiert. In den gesammelten Kotproben wurden nach Bestimmung der Trockenmasse durch Gefriertrocknung die Gehalte an Rohfaser bestimmt.

Über die gesamte Versuchsdauer (33 Tage) wurde pro Aquarium die täglich abgegebene Anzahl an Laichgelegen erfasst.

Im Versuchsverlauf wurden tote Tiere sofort aus dem Aquarium entfernt, an ihrer Markierung identifiziert und nicht mehr ersetzt. Zur Berücksichtigung der Tierauffälle wurde aus der Futtervorlage und der Futterrückwaage für jeden einzelnen Versuchstag der Futterverzehr je Gramm Körpergewicht an lebenden Schnecken in einem Aquarium berechnet. Die Schätzung der individuellen Lebendmasse einer Schnecke zu einem bestimmten Versuchstag erfolgte durch lineare Extrapolation ihrer Lebendmasse zu Versuchsbeginn mit der durchschnittlichen täglichen Gewichtsveränderung derjenigen Schnecken, die im jeweiligen Aquarium bis zum Versuchsende überlebt hatten.

Die tierindividuellen Daten zur Lebendmasse der Tiere sowie die fortlaufenden Erhebungen des Futterverzehrs und der Laichablage wurden einer einfachen Varianzanalyse mit dem Faktor „Fütterung“ unterzogen (drei Stufen: Fischfutterpellets – Rotalgenblätter – Salatblätter). Bei Signifikanz des Faktors „Fütterung“ ($p < 0,05$) wurden die Mittelwerte der drei Aquarien mit einem Student-Newman-Keuls Test verglichen. Unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$).

Ergebnisse

Alle drei angebotenen Futtermittel wurden von den Schnecken als Futter erkannt und gefressen.

Im Verlauf des Fütterungsversuchs kam es zu relativ hohen Tierauffällen (im Gesamtmittel 40 %), die jedoch zufällig auf die drei Behandlungen verteilt waren. Am Ende des Experiments wiesen die überlebenden Tiere der drei Aquarien eine individuelle Lebendmasse von durchschnittlich $4,45 \pm 1,17$ g auf. Damit waren sie bei allen drei Futtergruppen nahezu auf dem gleichen Niveau wie zur Beginn des Fütterungsversuchs.

Die tägliche Futteraufnahme pro g Lebendmasse wies zwischen den Futtergruppen erhebliche Unterschiede auf (Tabelle 3). So verzehrte 1 Gramm lebende Schneckenmasse im Mittel über die gesamte Versuchsdauer täglich 4,0 mg Trockenmasse an Fischfutterpellets, dagegen nur 1,1 mg an Rotalgenblättern bzw. 0,8 mg an Salatblättern. Bei der Verdaulichkeit der Trockenmasse erzielten die Fischfutterpellets die niedrigsten Werte (51 %), gefolgt von Salatblättern (58 %), während Rotalgen die höchsten Werte aufwiesen (63 %) (Tabelle 3). Noch stärker ausgeprägt waren die Abstufungen bei der Verdaulichkeit der Rohfaser. Hier erzielten die Rotalgenblätter mit 57 % mit Abstand die höchsten Werte vor Salatblätter (40 %) und Fischfutterpellets (35 %). Trotz der relativ geringen Verdaulichkeit der Fischfutterpellets nahmen die Tiere in dieser Futtergruppe dennoch die größten Mengen an verdaulicher Trockenmasse auf (2,0 mg/g/Tag), gefolgt von Rotalgenblättern (0,7 mg/g/Tag) und Salatblättern (0,5 mg/g/Tag). Der Anteil an verdaulicher Rohfaser trug nur zu 3 % (Fischfutter) bis 10 % (Salat) zur Aufnahme an verdaulicher Trockenmasse bei.

Tabelle 3: Verzehr an Trockenmasse (mg pro Gramm lebender Schneckenmasse und Tag), Verdaulichkeiten (%) der Trockenmasse und der Rohfaser, sowie Verzehr an verdaulicher Trockenmasse und verdaulicher Rohfaser (mg pro Gramm lebender Schneckenmasse und Tag) bei Verfütterung von Fischfutterpellets, Rotalgenblättern und Salatblättern an Posthornschncken

	Fischfutter- pellets	Rotalgen- blätter	Salat- blätter
Verzehr an Trockenmasse (mg/g LM/Tag)	4,03 ^a ±0,88	1,10 ^b ±0,36	0,81 ^b ±0,22
Verdaulichkeit der Trockenmasse (%)	50,7	63,4	57,5
Verdaulichkeit der Rohfaser(%)	35,3	56,9	40,3
Verzehr an verdaulicher Trockenmasse (mg/g/Tag)	2,04 ^a ±0,45	0,70 ^b ±0,23	0,47 ^c ±0,13
Verzehr an verdaulicher Rohfaser (mg/g LM/Tag)	0,07 ^a ±0,01	0,04 ^c ±0,01	0,05 ^b ±0,01

Tabelle 4 zeigt die Zusammensetzung der Weichteile der Tiere aus der Nullgruppe und den unterschiedlich gefütterten Tieren am Ende des Versuchs. Aufgrund der limitierten Probenmenge wurden die Weichteile innerhalb der einzelnen Tiergruppen gepoolt und nur die Gehalte an Trockenmasse, Rohprotein und Gesamtfett bestimmt. Die restliche Trockenmasse entspricht den Nährstofffraktionen „Kohlenhydrate“ und „Mineralstoffe“. Im Vergleich zur Nullgruppe führte die Versorgung mit Fischfutterpellets zu einem höheren Gehalt an Trockenmasse in den Weichteilen. Innerhalb der Trockenmasse war eine beträchtliche Zunahme der Fraktion „Kohlenhydrate + Mineralstoffe“ zu verzeichnen, die hauptsächlich auf Kosten der Gehalte an Eiweiß ging. Der Fettgehalt nahm ausgehend von einem ohnehin sehr niedrigen Wert (7 %) nur geringfügig ab. Genau die gegenteilige Entwicklung nahm die Zusammensetzung der Weichteile der mit Rotalgen und Salat gefütterten Schnecken.

Tabelle 4: Rohnährstoffgehalte in den Weichteilen der Posthornschncken der Nullgruppe sowie der überlebenden Tiere nach Verfütterung von Fischfutterpellets, Rotalgenblättern und Salatblättern

	Null- gruppe	Fischfutter- pellets	Rotalgen- blätter	Salat- blätter
Trockenmasse (TM) (%)	18	20	16	17
Gesamtfett (% in TM)	7	6	5	5
Rohprotein (% in TM)	57	46	63	62
Kohlenhydrate + Mineralstoffe (% in TM) ¹⁾	37	49	33	35

(Kohlenhydrate + Mineralstoffe) = Trockenmasse – Rohprotein – Gesamtfett

Als weiterer Leistungsparameter wurde die Abgabe von Schneckenlaich erfasst. Wie in Tabelle 5 dargestellt, wies die mit Fischfutterpellets versorgte Tiergruppe eine etwa zwei bis dreifach höhere Laichproduktion auf als die mit Rotalgen oder Salat gefütterten Tiere.

Tabelle 5: Kenndaten der Laichablage von Posthornschncken bei Verfütterung von Fischfutterpellets, Rotalgenblättern und Salatblättern im Verlauf von 33 Versuchstagen

	Fischfutter- pellets	Rotalgen- blätter	Salat- blätter
Gesamtanzahl an Laichgelegen (n)	42	16	14
Tägliche abgegebene Laichgelege pro Gramm lebender Schneckenmasse (n/g LM/Tag)	0,015 ^a ±0,014	0,006 ^b ±0,008	0,005 ^b ±0,007

Diskussion

Die Posthornschncken waren zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns angesichts eines mittleren Gehäusedurchmessers von über 30 mm bereits weitgehend ausgewachsen [2]. Dieser Umstand erklärt einerseits, dass die Schnecken im Versuchsverlauf praktisch nicht mehr zugenommen hatten, andererseits aber auch die intensive Laichproduktion und die relativ hohe Sterberate der Tiere unabhängig von der Art der Fütterung.

Insgesamt wurde die Zielstellung der Etablierung eines experimentellen Modells zur Messung von Futtermittelverzehr und Nährstoffverdaulichkeit bei Posthornschncken erreicht. So wurden alle drei Futtermittel von den Tieren sofort gezielt aufgesucht und gefressen. Interessant sind hierbei jedoch die enormen Unterschiede im Futtermittelverzehr zwischen den einzelnen Futtergruppen. Bei Verfütterung von Fischfutterpellets lag der Futtermittelverzehr trotz deutlich schlechterer Verdaulichkeit etwa 4- bis 5-mal über dem der mit Algen bzw. mit Salat versorgten Tiere. Dies könnte daran liegen, dass die Salatblätter aufgrund ihrer grundsätzlich geringen Gehalte an Trockenmasse sowie die Algen aufgrund ihrer nachträglichen Quellung ein sehr großes Futtervolumen erzeugen, welches nicht in dem Maße bewältigt werden kann wie etwa die weitaus trockeneren Fischfutterpellets.

Rotalgenblätter erwiesen sich in der vorliegenden Untersuchung als das höchstverdauliche Futtermittel. Dieser Befund ist auf den ersten Blick naheliegend, denn Mollusken sind dafür bekannt, dass sie auf Makroalgen leben. Nun ist die Posthornschncke jedoch eine Süßwasserschncke und die hier getesteten Rotalgen stammen aus dem Meer. Offenbar besitzen Mollusken unabhängig von ihrem Lebensraum die Fähigkeit, aquatische pflanzliche bzw. pflanzenähnliche Biomasse (z.B. Makroalgen) effizient zu verdauen. So wurde kürzlich nachgewiesen, dass auch die Süßwasser-Teichmuschel über Verdauungsenzyme verfügt, die das wichtigste Reservekohlenhydrat von Makroalgen zu Glukose abbauen (Michl 2012, Lehrstuhl für Aquatische Systembiologie, WZW, Technische Universität München, unveröffentlichte Daten). Dieses sogenannte Laminarin hat eine für terrestrische Verhältnisse ungewöhnliche Verknüpfung der Glukose zum Reservepolymer [(1→3)-β]. Terrestrische Nutztiere und Fische besitzen keine entsprechenden Verdauungsenzyme zum Abbau von Laminarin, was den geringen Futterwert von Makroalgen in der derzeitigen Tierproduktion erklärt. Umgekehrt eröffnet die spezifische Verdauungskapazität der Mollusken für marine Reservepolysaccharide tatsächlich ein neues Fenster zu ihrer Verwendung als neuartige Nutztiere.

In der Tierproduktion weist Fischfutter üblicherweise sehr hohe Verdaulichkeiten auf. So wäre bei Verfütterung der hier eingesetzten Fischfutterpellets an Forellen eine Verdaulichkeit der Trockenmasse von etwa 90 % zu erwarten gewesen. Die überraschend geringe Verdaulichkeit bei der Posthornschncke könnte beispielsweise daran liegen, dass Mollusken nur eine limitierte Kapazität zur Verdauung und Verwertung von Nahrungsfett haben. Dies würde zu dem Umstand passen, dass die meisten Mollusken über die Bildung lipophiler Zellstrukturen (z.B. Membranen) hinaus kaum Depotfett anlegen, sondern überschüssige Nahrungsenergie überwiegend als Glykogen speichern [3]. Gerade kommerzielles Fischfutter ist jedoch reich an Fett, welches mutmaßlich nur begrenzt absorbiert werden konnte und darüber hinaus andere, verdauliche Nahrungsbestandteile durch Umhüllung mit einer lipophilen Schicht dem Zugriff des Verdauungssystems der Posthornschncke möglicherweise partiell entziehen konnte. Diese Hypothese muss durch weitere Untersuchungen allerdings noch verifiziert werden.

Die tägliche Aufnahme der Schnecken an verdaulichen Nährstoffen und damit mutmaßlich auch an Energie lag bei Verfütterung von Fischfutter weit über dem Niveau der mit Rotalgen oder Salat gefütterten Tiere. Die starke Zunahme der Nährstofffraktionen „Kohlenhydrate + Mineralstoffe“ in den Weichteilen scheint in diesem Zusammenhang den Aufbau von Glykogen als Energiedepot widerzuspiegeln. Dies dürfte auch den Anstieg des Gehalts an Trockenmasse bzw. die Verdrängung von Eiweiß und Fett innerhalb der Weichteil-Trockenmasse erklären. Offenbar war diese Tiergruppe mit Nährstoffen reichlich versorgt. Dafür spricht auch die hohe Laichproduktion dieser Tiergruppe. Umgekehrt reichte die deutlich geringere Nährstoffversorgung der mit Rotalgen und Salat gefütterten Tiere anscheinend nur für eine sehr begrenzte Laichproduktion. Sie schien darüber hinaus eine zusätzliche

Mobilisierung von Energiereserven aus dem Glykogendepot zu erfordern, was die relative Anreicherung von Eiweiß in den Weichteilen sowie den Abfall der Gesamttrockenmasse im Schneckenkörper im Vergleich zur Nullgruppe erklärt.

Insgesamt zeigt die vorliegende Pilotstudie, dass die Posthornschnecke ein interessantes Modelltier für die experimentelle Bearbeitung angewandter Fütterungsfragen von Mollusken darstellt. Besonders interessant war die hohe Verdaulichkeit der Trockenmasse von Rotalgen, aber auch die hohe Verzehrskapazität von pelletiertem Fischfutter. Damit eröffnet sich grundsätzlich ein experimenteller Weg, die Möglichkeiten und Limitierungen von Mollusken als potenzielle Transformatoren von mariner Biomasse in hochwertige essbare oder verfütterbare Produkte quantitativ auszuloten, mit herkömmlichen Nutztiersystemen zu vergleichen und in Zukunft gegebenenfalls zu kombinieren.

Literatur

- [1] FAO - Fisheries and Aquaculture Department (nicht datiert), Statistics (zuletzt aufgerufen am 6. Oktober 2012)
a) http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hqp_8151549812916144658.xml&outtype=html
b) http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hqp_6372832740377966266.xml&outtype=html
- [2] COSTIL, K., & DAGUAZAN, J. (1995). Comparative life cycle and growth of two freshwater gastropod species, *Planorbarius corneus* (L.) and *Planorbis planorbis* (L.). *Malacologia* (37(1)), pp. 53-68.
- [3] EMERSON, D. N. (1967). Carbohydrate oriented metabolism of *Planorbarius corneus* (Mollusca, Planorbidae) during starvation. *Comparative Biochemistry and Physiology* (22), pp. 571-579.

Autorenanschrift

Prof. Dr. Wilhelm M. Windisch
Lehrstuhl für Tierernährung
Technische Universität München
Liesel-Beckmann-Straße 6; D-85354 Freising-Weihenstephan
E-Mail: wilhelm.windisch@wzw.tum.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

Feed materials derived from insects and other invertebrates – Current situation of legal status

Christian Elwert

feedtest, Wettin-Löbejün, DE

Introduction

Insects and other invertebrates (e.g. earthworms) form a considerable part of the native diets of birds and pigs.

Although in older text books frequently related to as high quality proteins, especially for small scale farming, invertebrates were hardly addressed in modern, large-scale animal production systems. The reasons can be found in problems related to mass production of invertebrates, high initial costs and low costs of easily available other protein sources.

Over the past years, markets have changed markedly: shortage of protein feed materials due to re-directed land use (biomass for energy), ban of animal protein in the wake of the BSE occurrence, changing ethical assessments of feed materials (genetically modified plants, fish meal).

These developments have made investigations into alternative sources of feed materials (especially protein feeds) attractive again. Around the world, much emphasis is put on the use of insects as feed material and the design of insect production systems (Khurso et al., 2012; Veldkamp et al., 2012).

Within the EU, there is a very complex legislation about feed and feeding. The following shall focus on the major facts.

Feeding insects to food producing animals

Following the BSE outbreak, in 2001 regulation (EC) 999/2001 came into force, addressing the feeding of processed animal proteins to food processing animals and other species. Initially, this regulation related to by-products from processing livestock to food for human consumption. Yet, this relation became very blurred in the various amendments introduced over the years.

Unfortunately, at the time of drafting (EC) 999/2001, insects and other invertebrates were not commercially used in livestock nutrition. Therefore, no provisions were provided in the framework for a later introduction of these very different feed materials.

As of now (April 2013), insects and invertebrates must be hydrolysed before being fed to food producing animals ((EC) 999/2001, last amendment on 17.11.2012 by (EC) 1064/2012).

As widely known, the feed ban on animal proteins shall be lifted partially, due to the marked decrease of the occurrence of BSE and identification of various categories of risk potential of BSE transmission by feeding. In this context, the need for hydrolysing animal proteins prior to feeding was lifted for aquaculture. Animal proteins derived from non-ruminants may be fed to aquaculture animals without prior hydrolysis ((EC) 56/2013 amending (EC) 999/2001 as of 1.6.2013).

For feeding insects to pigs and poultry, the need for hydrolysis stays in place.

Feeding insects and invertebrates for feed production

Insects can thrive on a wide range of organic material. Insects and invertebrates play a crucial role in the decomposition of dead organic material and, at the same time, forming new, high-quality feeds in a very early stage of the feeding chain (or feeding pyramid). In the natural cycle of nutrients (producer – consumer – destructive agent –producer...), insects and other invertebrates fill in a combined position of destructive agent and producer.

These characteristics would qualify insects to be raised on a variety of substrates which otherwise would not be fit to serve as feed materials due to original nutrient composition. However, regulation (EC) 1069/2009 defines in Article 3:

"5. 'animal' means any invertebrate or vertebrate animal;

6. 'farmed animal' means:

(a) any animal that is kept, fattened or bred by humans and used for the production of food, wool, fur, feathers, hides and skins or any other product obtained from animals or for other farming purposes; [...]"

In other words: Insects and invertebrates fattened for the production of feed materials are considered 'farmed animals' and can only be fed with feed materials! This implies not only the ban of a range of excellent substrates but goes far beyond that: Batches of compound feed which (for whatever reason) shall not be used in the species intended for, cannot be simply used alternatively for fattening insects and other invertebrates, because compound feed frequently contains feed additives, which are subject to regulation (EC)1831/2003. Many additives are registered for the use in certain animal species only. It would be illegal to use such compound feeds as substrates for insects.

Other aspects

Free-ranging pigs and poultry is a politically and socially preferred production system. Especially when herds or flocks are moved onto new pastures, intake of insects and worms may form a considerable proportion of the diet. In this case, the European Commission does not see a breach of the above mentioned rules "since the insects picked up by pigs or poultry kept out-doors is not seen as feeding" (Borg on behalf of the Commission, 4.1.2013).

Currently (March 2013), 'dried insects' are listed in the European feed materials register (www.feedmaterialsregister.eu). This entry has no legal power and does not release potential users of dried insects to follow the legal framework (<http://www.feedmaterialsregister.eu/index.php?page=Presentation>), namely regulation (EC) 999/2001.

From a theoretical point of view, insects could also be fed alive, if production and transportation processes are set up accordingly. So far, an assessment of this possibility was not available from either national or EU administrative bodies. Regulation (EC) 999/2001 does not directly apply to feeding live, unprocessed insects. However, feeding live insects would also need some consideration of animal welfare (insect welfare). The legal point of feeding live animals to pigs and poultry has not yet been explored.

Insects and other invertebrates are known as native foods in certain regions worldwide. Mostly, they originate from catches from the wild rather than being produced for that purpose. Over the last years, an increasing number of restaurants have discovered insects and invertebrates as a niche (internet search), producing the insects either themselves or sourcing the ingredients for the meals from small-scale producers for feeds for exotic pets. So far, no legal framework is known regulating insect production for human consumption. These production sites should obey (EC) 1069/2009, although it

must be doubted that the implications of this regulation is completely understood by both, insect growers as well as authorities responsible for controlling the restaurants.

Summary

Current legislation does not support the prompt use of insects and other invertebrates as animal feeds, even if this use is supported by the natural feeding behaviour of pigs and poultry. From June 2013, insects can be used in aquaculture nutrition without prior hydrolysis.

Classification of insects for feed production as 'farmed animals' restricts potential substrates to feed materials. Scientific work is necessary to provide evidence of the safety of further (native) substrates for the production of insects in order to extend the basis of insect production beyond common feed materials.

Since all legal framework related to insects as feed materials is headed by the EU institutions, changes can only be obtained by elaborate lobbying. All scientific and commercial stakeholders are invited to cooperate and bundle their powers.

References

Borg on behalf of the Commission, 4.1.2013. <http://www.europarl.europa.eu/sides/getAllAnswers.do?reference=E-2012-010010&language=EN>

Feed materials register. www.feedmaterialsregister.eu

Internet search engine (any). Search term 'insect restaurant'

Khurso M, Andrew NR, Nicholas A (2012). Insects as poultry feed: a scoping study for poultry production systems in Australia. *World's Poultry Science Journal* 68: 435-446.

Regulations (EC). Initial and consolidated versions to be found at http://eur-lex.europa.eu/RECH_menu.do?ihmlang=en by 'Search by document number' and year+number of document

Veldkamp T, van Duinkerken G, van Huis A, Iakemond CMM, Ottevanger E, Bosch G, van Boeckel MAJS (2012). Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets – a feasibility study. Report 638. Wageningen UR Livestock Research, Lelystad, The Netherlands.

Corresponding author

Christian Elwert
feedtest: feeding trials, feed evaluation, consultancy
Löbejüner Straße 32, D-06193 Wettin-Löbejün
E-mail: elwert@feedtest.de

Microbiological analysis of silage at different contaminant levels in soil

Veronika Mlejnková¹, Martina Fröhdeová¹, Kateřina Lukešová¹,
Jitka Přichystalová², Libor Kalhotka² and Petr Doležal¹

¹ Department of Animal Nutrition and Forage Production, Mendel University in Brno, CZ

² Department of Agrochemistry, Soils, microbiology and Plant Nutrition, Mendel University in Brno, CZ

Introduction

Clostridia are ranked among the undesirable microorganisms which are the most frequently present in canned forage. They can not only decrease quality of silage (tastiness and content of nutrients) but they can also represent cardinal health risk for animals and afterward for humans (WILKINSON, 1999). Preservation of the greatest part of nutrients from the initial fodder is one of the condition for quality of silage. Important step is to preserve positive dietetic properties, taste and resistance of silage to secondary fermentation.

Clostridia can be present in soil, mud, secondarily in silage, at the bottom of backwater, in fermentation of waste at garbage dump, in intestinal human or animal gut, manure, in digestive chambers of waste-water treatment plant or in milk and cheese (CATO et al., 1986; GÖRNER, 2004). Clostridia are resistant to higher temperature, radiation, digestive juices, disinfection and oxygen.

Contamination of forage by soil is important from the view of presence of clostridia spores which gets into silages through the contaminated forage. Their subsequent feeding leads to the transport of undesired microorganisms even by slight contamination of udder to milk, dairy products and finally into human (WEISSEBACH, 2010).

Material and methods

To the model experiment, the alfalfa (*Medicago sativa*, var. Palava) was set. Alfalfa was get from the second mowing of experimental plots and shortly let to dry at dry matter of 32%. Addition of soil in doses of 0, 20 and 40 g/kg of dry matter was the monitored factor in the experiment. Soil, used for contamination, was taken from the surface layer of experimental plots (max. depth was 1 cm). Doses of added soil were proposed with the regard of expected content of ash in original matter (around 8%/kg of dry matter) and intention to exceeding 10 % of ash content in contaminated silage which is considered as ash border value.

In the experiment, there were used three variants of silage in three repetitions. There were control variant without addition of soil (P0), control variant with the addition of soil in dose of 20 g/kg of dry matter (P20) and control variant with the addition of 40 g/kg of dry matter (P40).

From the each variant, 6 kg of matter was taken and tamped down into special silage containers. Construction of containers enables hermetic closure and stable weighing of silage matter. For the time of 8-10 weeks, model silage were stored in laboratory at average temperature of 24-26 °C. After opening of containers, representative sample was taken from each experimental variant for the microbiological analysis.

Microbiological analysis of the individual mixed forage samples was done according the standard methods. One milliliter of particular dilution was inoculated into Petri Dish. For the determination of Total Counts of Microorganisms, PCA media was used and the incubation was set at 30 °C for 72 hours, for the determination of Yeast and Moulds, Chloramphenicol Glucose agar was used, incubation was set at 25 °C for 120 hours. For the determination of the family *Enterobacteriaceae*, VRBG agar was used, incubation was set at 37 °C for 24 hours. For the determination of sulphur-reducing clostridia (*Clostridium perfringens*), TSN agar was used and incubation was set at 45 °C for 24 hours. After the incubation time, colonies were counted from Petri Dishes and expressed in colony forming units per gram of silage (CFU/g).

Results were statistically processed by method of variance analysis and the differences between individual groups were evaluated by Scheffe's test according SNEDECOR and COCHRAN (1967). The differences between all variants without and with the addition of soil were monitored. Statistically provable difference is present in table as index (a; b). Data in text are presented as average \pm standard deviation.

Results and discussion

The aim of the experiment was to determine the influence of soil addition in different doses to occurrence of microorganisms in experimental silages by microbiological analysis. In the experiment, the Total Counts of Microorganisms (TCM), Clostridia, bacteria of family *Enterobacteriaceae*, Yeast and Moulds were determined.

After soil addition into initial mass of alfalfa, bacteria of family *Enterobacteriaceae* decreased their counts. High statistically significant difference was demonstrated ($P < 0.01$) between variants (table 1) with addition of soil in the dose of 0 g/kg of dry matter ($2.17 \cdot 10^2 \pm 3.32 \cdot 10^1$) and 40 g/kg of dry matter ($3.64 \cdot 10^1 \pm 2.57 \cdot 10^1$).

Table 1: Bacteria of the family *Enterobacteriaceae*

Soil addition (g/kg DM)	Without treatment (P) average \pm standard deviation.		index
0	2,17E+02	\pm 3,32E+01	a
20	1,15E+02	\pm 7,12E+01	ab
40	3,64E+01	\pm 2,57E+01	b

Bacteria from the family *Enterobacteriaceae* only slightly occurred in samples (figure 1). These bacteria indicate fecal contamination of silages.

In experimental silages, presence of sulfur-reducing clostridia was not detected. At other clostridia, statistically significant difference ($P > 0.05$) between individual variants was not demonstrated (tab 2).

Counts of other clostridia reached maximum 10^5 CFU/g. ZEMANA et al. (2006) reports that quality of silages is convenient if counts of clostridia reach maximum 5000 CFU/g.

At total counts of microorganisms, statistically significant difference between addition of soil in dose of 20 g/kg ($1.96 \cdot 10^7 \pm 6.21 \cdot 10^6$) and 40 g/kg of dry matter ($4.97 \cdot 10^7 \pm 1.89 \cdot 10^7$) was proved.

Total counts of Microorganisms ranked to 10^8 CFU/g (Figure 2). Total Counts of Microorganisms were set for the general determination of microbiological colonization of silages.

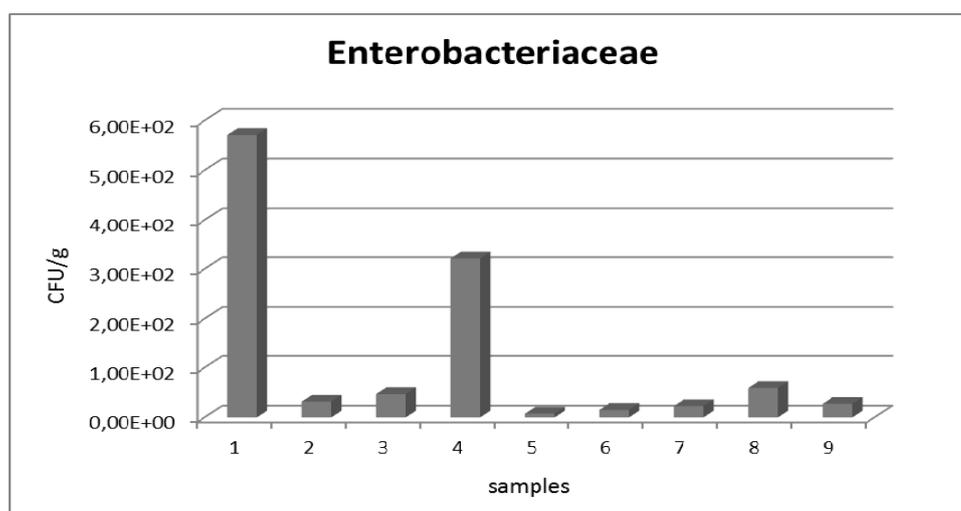


Figure 1: Bacteria from the family *Enterobacteriaceae*

Table 2: Other clostridia

Soil addition (g/kg DM)	Without treatment (P) average \pm standard deviation		index
0	1,82E+04	\pm 1,19E+04	a
20	5,31E+03	\pm 1,22E+03	a
40	5,24E+03	\pm 6,03E+02	a

Table 3: Total Counts of Microorganisms

Soil addition (g/kg DM)	Without treatment (P) average \pm standard deviation		index
0	2.95E+07	\pm 1.14E+07	ab
20	1.96E+07	\pm 6.21E+06	a
40	4.97E+07	\pm 1.89E+07	b

Presently, there are no limits for counts of Yeast and Moulds. ZEMAN et al. (2006) and MUDŘÍK et al. (2006) report that still satisfactory counts of Moulds are set to be 10^5 CFU/g and limit counts of Yeast 10^4 CFU/g. If in the concentration of moulds is higher than 10^6 - 10^7 CFU/g, forage are already considered to be spoiled and unfeedable. Moulds are ranked between undesirable microorganisms because they present health and nutrition problem. They indicate inconvenient hygienic conditions. Yeasts are the main reason for aerobic instability of silages. Strong inhibition action against Yeast and Moulds is seen at acetic acid and propandiol which are formed while fermentation (MATHIES, 2000). The statistically significant difference was not demonstrated at individual variants of moulds and Yeast ($P < 0.05$). Samples of experimental silages were not visually moldy. Maximum counts of moulds and Yeast were detected in orders of magnitude from 10^2 to 10^3 CFU/g. The values comply with the hygienic quality of experimental silages.

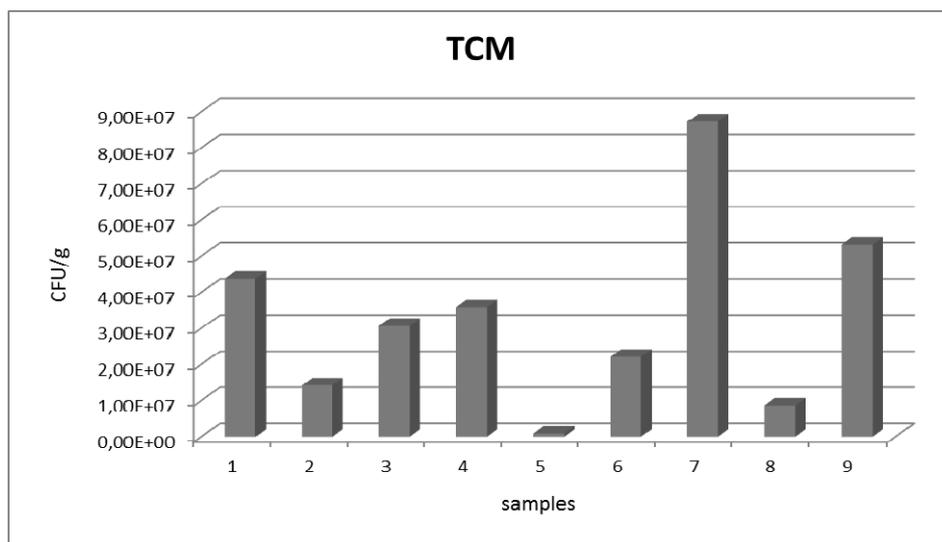


Figure 2: Total Counts of Microorganisms

Table 4: Moulds and Yeast

microorganism	variant	average ± standard deviation			index
Moulds	P	3.18E+01	±	1.67E+01	a
	P20	7.32E+01	±	4.02E+01	a
	P40	1.31E+01	±	8.44E+00	a
Yeast	P	2.33E+02	±	1.68E+02	a
	P20	1.31E+02	±	1.01E+02	a
	P40	3.38E+01	±	1.24E+01	a

Conclusion

At the second mow of alfalfa, numbers of *Enterobacteriaceae* were gradually decreasing – doses 0, 20 and 40 g/kg. Counts of bacteria from family *Enterobacteriaceae* after addition of soil in dose of 20 g/kg were statistically lower than after the soil addition in dose of 40 g/kg of dry matter. At Total counts, statistically significant difference ($P < 0.05$) was determined between variants with the soil addition in dose of 20 g/kg of dry matter ($1.96 \cdot 10^7 \pm 6.21 \cdot 10^6$) and 40 g/kg of dry matter ($4.97 \cdot 10^7 \pm 1.89 \cdot 10^7$). Addition of soil in different doses did not have any influence to the occurrence of sulfur-reducing clostridia. Experimental silages were in compliance with the hygienic quality of silages.

Acknowledgement

The study was supported by the Research Plan an internal grant project (IGA) No IP 2/2012 "The risk incidence of clostridia in silage."

References

- CATO EP, GEORGE WL, FINEGOLD SM (1986): Genus Clostridium. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Baltimore, USA, s 1141-1200.
- GÖRNER F. a kol. (2004): Aplikovaná mikrobiológia požívatín, 1. vyd., Malé centrum, Bratislava, 528 stran,. ISBN 80-967064-9-7.
- MATHIES E. (2002): Der natürliche weg zu höheren futterwertern. Erfolg im Stall, No. 1, p. 2 – 4.
- MUDŘÍK, Z., a kol. (2006): Základy moderní výživy skotu, Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, 270 s.
- SNEDECOR, G. W., COCHRAN, W. G. (1976): Statistical Methods. 6thed., Iowa. Iowa State University Press, 579 pp.
- WILKINSON JM. (1999): Nat. Toxins 7, 221-232.
- WEISSBACH F., 2010: Clostridie – zátěž konzervovaných krmiv. Německo. Databáze online [cit. 2010-11-10].
- ZEMAN L., A KOL. (2006): Výživa a krmení hospodářských zvířat, Profi Press, Praha, 360 s. ISBN 80-86726-17-7.

Corresponding author

Veronika Mlejnková
Mendel University in Brno
Zemědělská 1, 613 00 Brno; Czech Republic
E-mail: veronika.mlejnkova@mendelu.cz

Comparison of nutrient digestibility of fermented and non-fermented diets fed to growing pigs

Matej Brestenský, Soňa Nitrayová, Peter Patráš and Jaroslav Heger

Institute of Nutrition, Animal Production Research Centre Nitra, SK

Introduction

Liquid feeding systems are used in pig farms for several years and the interest about these systems constantly rise (Scholten, 2001). The advantage of these systems is their positive effect on microflora in the digestive tract, particularly when food industry co-products are used (Jensen and Mikkelsen, 1998; Scholten et al., 2002).

Liquid feed is prepared by mixing feed with water. It may be either fermented or non-fermented. The non-fermented feed is prepared immediately before feeding while the fermented diet is obtained by mixing a dry feed compound with water and storing it in tanks at a certain temperature and time. After this process, it can be used for feeding. The initial phase of fermentation is characterized by a low level of lactic acid bacteria, low lactic acid concentration, high pH and by a growth of enterobacteria. This phase is followed by a period during which the number of lactic acid bacteria increases and the pH and the number of enterobacteria decreases (Jensen and Mikkelsen, 1998; Canibe et al., 2001; Lawlor et al., 2002).

There are several reports demonstrating a positive effect of fermented diets on health status of the intestine (Scholten et al., 2002) but information about the effect of diet fermentation on nutrient digestibility is inconsistent (Lyberg et al., 2006; Pedersen and Stein, 2010).

The objective of this study was to investigate the effect of diet fermentation on total tract and apparent ileal digestibility of dry matter (DM), nitrogen (N), phosphorus (P) and calcium (Ca) and on apparent ileal digestibility of amino acids in pigs.

Material and methods

Animals and experimental design

We used 6 gilts with initial body weight of 31.6 kg. The pigs were fitted with T-cannula in terminal ileum and were housed in metabolism cages in an air-conditioned room at 20.1 °C. The pigs, after a 14-day recovery period during which they were fed with a standard diet, were allotted to a 2 x 6 factorial arrangement with 6 pigs and two diets. Each experimental period consisted of a 5-day preliminary period followed by a 2-day collection period during which faeces were collected. On the 2nd day of the collection period, ileal digesta was collected continuously for 24 hours. Samples of faeces and ileal digesta were stored at -20 °C for chemical analyses.

Diets and feeding

In this study we used two forms of diet. The basal diet (BD) (Table 1) was fed dry. The fermented diet (FD) was prepared by mixing BD with water in feed:water ratio of 1:2.5 (w/w), 20 ml of lactic acid was added per kg of dry feed and the suspension was stirred for 1 h. Then the diet was stirred for 5 min every 90 min and additionally for 20 min before each feeding. Every day after morning feed-

ing, dry feed and water required for the next 24 h were added to the mixing vessel to maintain the constant feed:water ratio.

Chromic oxide was added into the diets in an amount of 0.3 % as an indigestible marker.

Table 1: Ingredient and chemical composition of the basal diet (g/kg, air-dry basis)

Maize	590.0
Barley	170.5
Soyabean meal	201.0
L-lysine HCl	1.94
L-threonine	0.16
Limestone	16.3
Monocalcium phosphate	0.5
Sodium chloride	3.6
Vitamin and micromineral premix ¹	3.0
Chromic oxide	3.0
Celite	10.0
Dry matter	897.5
Crude protein	162.5
Ash	57.3
Ca	7.09
Total P	4.09
Digestible P (calculated)	1.10
Chromium	2.11
Acid insoluble ash	16.19
Gross energy (MJ/kg)	16.21

¹ Supplied per kg of diet: vit. A, 7 200 IU; vit. D3, 1 350 IU; α -tocopherol, 18 mg; vit. B1, 0.54 mg; vit. B2, 3.6 mg; vit. B6, 19.5 mg; Ca-pantothenate, 10.5 mg; niacin, 15 mg; vit. K3, 0.54 mg; biotin, 0.06 mg; cyanocobalamin, 0.021 mg; choline, 102 mg; betaine, 51 mg; Fe, 60 mg; Zn, 90 mg; Mn, 42 mg; Cu, 21 mg; I, 0.42 mg; Co, 0.54 mg; Se, 0.21 mg.

The diets were fed twice daily at 6.00 and 16.00 h in two equal doses at a daily rate of 80 g/kg^{0.75}. Water was offered *ad libitum*.

Chemical analyses

In the samples of diets and lyophilized samples of faeces and ileal digesta, DM, N, P and Ca were analyzed in accordance with AOAC (1990) procedures. Chromic oxide was analyzed as described by Williams et al. (1962). The contents of amino acids in samples of diets and ileal digesta were analyzed using automatic analyzer of amino acids AAA 400 (Ingos, Praha) after acid hydrolysis with 6M-HCl except for methionine and cysteine, which were analyzed after oxidative hydrolysis.

Calculation

Total tract digestibility (TTD) and apparent ileal digestibility (AID) were calculated using the following formulas:

$$\text{TTD, \%} = 100 \times [1 - (N_f \times C_d) / (N_d \times C_f)];$$

$$\text{AID, \%} = 100 \times [1 - (N_i \times C_d) / (N_d \times C_i)]$$

Where N_d and C_d are dietary concentrations (g.kg⁻¹ DM) of nutrient and chromic oxide, respectively and N_f ; C_f and N_i ; C_i are contents of nutrient or chromic oxide (g.kg⁻¹ DM) in faeces and ileal digesta, respectively.

Statistical analyses

Statistical analyses of experimental data were performed using ANOVA of Statgraphic Plus package v. 3.1. (1997). When significant value for treatment effect ($P < 0.05$) was observed, the differences between means were assessed using Fisher's LSD procedure. Each animal was considered as experimental unit. Analysis of covariance was conducted to evaluate the effect of diet form on the total tract digestibility and apparent ileal digestibility of nutrients.

Results and discussion

The diet fermentation may be a strategy to improve the digestibility of nutrients in diets fed to pigs (Lyberg et al., 2006). Shekib (1994) and Skrede et al. (2002) reported that short-term fermentation of cereal grains resulted in higher nutrient digestibility and reduced the levels of anti-nutrients in diets. Despite these reports, we found no effect of diet fermentation neither on total tract digestibility nor the apparent ileal digestibility of DM, N, P and Ca (Tables 2 and 3). The highest digestibility in both basal and fermented diets was found for N. The digestibility of P and Ca was slightly higher in fermented diet when compared with the basal diet, but no difference was significant.

Table 2: Effect of diet fermentation on total tract digestibility of dry matter (DM), nitrogen (N), phosphorus (P) and calcium (Ca) (%)

Diet	DM	N	P	Ca
Basal diet	86.2	87.3	41.1	47.9
Fermented diet*	86.6	86.3	43.0	48.2
Pooled SEM	0.5	0.8	3.8	3.1

* Fermented diet was prepared by mixing basal diet with water in feed : water ratio of 1:2.5 (w/w) and fermented in laboratory set up. The content of 20 ml of lactic acid was added per kg of dry feed.

Table 3: Effect of diet fermentation on apparent ileal digestibility of dry matter (DM), nitrogen (N), phosphorus (P) and calcium (Ca) (%)

Diet	DM	N	P	Ca
Basal diet	69.3	72.7	47.2	46.0
Fermented diet*	68.7	70.2	48.9	50.5
Pooled SEM	1.0	1.4	3.5	4.6

* Fermented diet was prepared by mixing basal diet with water in feed : water ratio of 1:2.5 (w/w) and fermented in laboratory set up. The content of 20 ml of lactic acid was added per kg of dry feed.

Similarly Pedersen and Stein (2010) reported no differences for total tract and apparent ileal digestibility of N, DM and P in dry non-fermented diet based on maize-soyabean meal in comparison with pigs that were fed fermented diet mixed at a ratio feed:water either 1:1 or 1:3. A strong trend towards lower apparent ileal digestibility of crude protein in fermented diets mixed in ratio feed:water 1:3 was observed (Pedersen and Stein, 2010). Contrary to these results, Scholly et al. (2011) reported higher total tract digestibility of organic matter and crude protein and higher apparent ileal digestibility of organic matter in pigs fed fermented diets containing 80 % of wheat or barley, mixed at a ratio feed:water 1:2.75, as compared to pigs fed dry non-fermented diets. A higher total tract and ileal digestibilities of dry matter was also observed in pigs which were fed with fermented barley and wheat diets in comparison with pigs fed dry non-fermented diets (Jørgensen et al., 2010).

We observed no effect of diet fermentation on apparent ileal digestibility of amino acids (Table 4). Pedersen and Stein (2009) found that when the diet was mixed with water at a ratio 1:1, amino acid digestibility (except for proline and serine) was not affected by diet fermentation. However, when feed

and water were mixed at a ratio 1:3, the apparent ileal digestibilities of isoleucine, leucine, phenylalanine, tryptophan and tyrosine were reduced in comparison with the apparent ileal digestibility for pigs fed dry diet.

Fermentation is a dynamic process whereby carbohydrates and proteins are transformed by microbes such as lactic acid bacteria. The fermentation of protein and amino acids is undesirable due to the loss of feeding value and the production of ammonia and biogenic amines that are harmful for the gastrointestinal mucosa. By contrast, the production of lactic acid and to a lesser extent of acetic acid, ethanol and CO₂ resulting from carbohydrate fermentation have a desirable effect on digestive tract (Visek, 1972, 1978). The high content of non-starch polysaccharides in the diet reduces nutrient digestibility and absorption in poultry and pigs (Choct and Annison, 1990; Van Barneveld and Hughes, 1994) and therefore the non-starch polysaccharides in wheat and barley diets have an anti-nutritive effect (Choct and Annison, 1990; Annison and Choct, 1991). The content of non-starch polysaccharides in the diets based on barley and wheat decreases due to the fermentation in comparison with non-fermented dry diets (Jørgensen et al., 2010; Scholly et al., 2011). This may be the reason for higher digestibility of nutrients in pigs which were fed with fermented diets, especially those containing ingredients with low digestibility or fermentability. Therefore the fermentation of diets could be the strategy to improve energy value for pigs when the diets with low digestible components are used (Jørgensen et al., 2010).

Table 4: Effect of diet fermentation on apparent ileal digestibility of amino acids (%)

Amino acid	Diet		Pooled SEM
	Basal	Fermented*	
Arginine	85.3	84.5	0.4
Histidine	82.4	81.6	0.5
Isoleucine	81.4	80.5	0.5
Leucine	83.6	83.5	0.5
Lysine	83.6	82.8	0.5
Methionine	85.4	84.7	0.4
Phenylalanine	77.5	76.4	0.7
Threonine	72.9	71.6	0.8
Valine	78.4	77.3	0.6
Alanine	73.4	72.1	0.8
Aspartic acid	80.8	79.9	0.6
Cysteine	76.9	75.8	0.7
Glutamic acid	85.4	84.7	0.4
Glycine	62.8	60.9	1.1
Proline	52.9	50.5	1.4
Serine	79.1	78.1	0.6
Tyrosine	79.7	78.7	0.6
Total AA	77.7	77.2	0.9

* Fermented diet was prepared by mixing basal diet with water in feed:water ratio of 1:2.5 (w/w) and fermented in laboratory set up. The content of 20 ml of lactic acid was added per kg of dry feed

Conclusion

We found no effect of diet fermentation on total tract or on apparent ileal digestibility of nutrients in pigs. Based on our results and results from other studies, aimed to study the effect of diet fermentation on nutrient digestibility, we can conclude that fermentation of diets fed to pigs may improve the nutrient digestibility when the diets with high content of low digestible ingredients, especially NSP, are used.

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

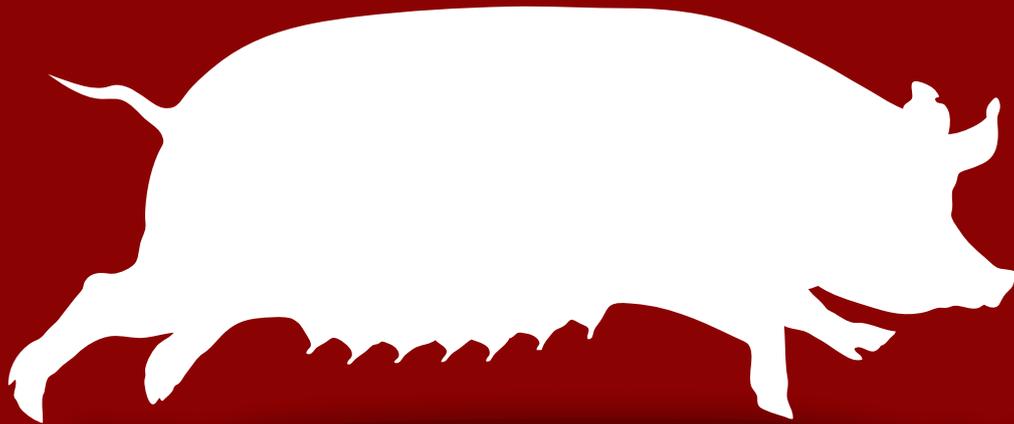
- Annisson G., Choct M. 1991. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. *World Poultry Sci. J.* 47, 232-242.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Assoc. Offic. Anal. Chem., Washington, DC.
- Canibe N., Miquel N., Miettinen H. and Jensen B. B. 2001. Addition of formic acid or starter cultures to liquid feed. Effect on pH, microflora composition, organic acid and ammonia concentration. *Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet.* 66, 431-432.
- Choct M. and Annison G. 1990. Anti-nutritive activity of wheat pentosans in broiler diets. *Br. Poult. Sci.* 31, 811-821.
- Jensen B.B. and Mikkelsen L.L. 1998. Feeding liquid diets to pigs. in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, ed. Nottingham Univ. Press, Nottingham, U.K, pp.107-126.
- Jørgensen H., Sholly D., Pedersen A.O., Canibe N., Bach Knudsen K.E. 2010. Fermentation of cereals – influence on digestibility of nutrients in growing pigs. *Liv. Sci.* 134, 56-58.
- Lawlor P.G., Lynch P.B., Gardiner G.E., Caffrey P.J., and O'Doherty J.V. 2002. Effect of liquid feeding weaned pigs on growth performance to harvest. *J. Anim. Sci.* 80, 1725-1735.
- Lyberg K., Lundh T., Pedersen C., Lindberg J.E. 2006. Influence of soaking, fermentation and phytase supplementation on nutrient digestibility in pigs offered a grower diet based on wheat and barley. *Anim. Sci.* 82, 853-858.
- Pedersen C. and Stein H. 2009. Amino acids digestibility in liquid and fermented diets fed to growing pigs. In: *Book of abstract in Digestive physiology in pigs, 2009*, pp 96.
- Pedersen C. and Stein H.H. 2010. Effects of liquid and fermented liquid feeding on energy, dry matter, protein and phosphorus digestibility by growing pigs. *Liv. Sci.* 134. 59-61.
- Shekib L.A. 1994. Nutritional improvement of lentils, chick pea, rice and wheat by natural fermentation. *Plant Foods Human Nutr.* 46, 201-205.
- Sholly D.M., Jørgensen H., Sutton A.L., Richert B.T. and Bach Knudsen K.E. 2011. Effect of fermentation of cereals on the degradation of polysaccharides and other macronutrients in the gastrointestinal tract of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 89, 2096-2105.
- Scholten R.H.J., Van der Peet-Schwering C.M.C., den Hartog L.A., Balk M., Schrama J.W. and Verstegen M.W.A. 2002. Fermented wheat in liquid diets: Effects on gastrointestinal characteristics in weanling piglets. *J. Anim. Sci.* 80, 1179-1186.
- Scholten, R.H.J. 2001. Fermentation of liquid diets for pigs. Ph.D. Diss., Wageningen Univ., Wageningen, The Netherlands.
- Skrede G., Storebakken T., Skrede A., Sahlstrom S., Sorensen M., Shearer K.D. and Slinde E. 2002. Lactic acid fermentation of wheat and barley whole meal flours improves digestibility of nutrients and energy in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) diets. *Aquaculture.* 210, 305-321.
- Van Barneveld R.J. and Hughes R.J. 1994. The nutritive value of lupins for pigs and poultry. In: *First Australian Lupin Technical Symposium* (Ed. M. Dracup and J. Palta), Perth, Western Australia, pp. 49-57.
- Visek W.J. 1972. Effects of urea hydrolysis on cell life-span and metabolism. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 31, 1178-1193.
- Visek W.J. 1978. The mode of growth promotion by antibiotics. *J. Anim. Sci.* 46, 1447-1449.
- Williams C.H., David D.J., Lismoa O. 1962. The determination of chromic oxide in fecal samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.* 59, 381-390.

Corresponding author

Ing. Matej Brestenský, PhD.
Animal Production Research Centre Nitra
Institute of Nutrition
Hlohovecká 2; 95141 Lužianky, Slovak Republic
E-mail: m_brestensky@cvzv.sk

EXIT

ENTRANCE



SAUEN IN GRUPPEN LÄNGER PRODUKTIV HALTEN – MIT GESUNDEN KLAUEN !

Die neue Verordnung zur Gruppenhaltung lässt die Gesundheit der Klauen mehr denn je eine höhere Bedeutung zukommen. Die Sauen müssen sich innerhalb der Gruppe bewegen können. Gesunde Klauen sind daher von großer Bedeutung für eine lange Lebensdauer.

Availa®Sow hilft die Klauengesundheit zu verbessern. In 15 europäischen Versuchen wurde nachgewiesen, dass Availa®Sow die mittleren und schweren Klauenverletzungen um 60% reduziert. Die Folge waren weniger Sauenabgänge, eine höhere Leistung und damit mehr Gewinn.

Durch das Feet First® Projekt von Zinpro bekommen Sie mehr Fachwissen zur Beurteilung von Klauenläsionen, effektiver Klauenpflege und Lahmheitsbewertung.



Wollen Sie mehr wissen ? Besuchen Sie Zinpro.com oder sprechen Sie mit Ihrem Zinpro Vertreter.



RETURN • RESPONSE • REPEATABILITY • RESEARCH • REASSURANCE

Wirkung einer Kombination von organischen Spurenelementen auf Klauenverletzungen bei Sauen – Ergebnisse aus Feldversuchen in Europa

Christof Rapp und Francisco Fernandez Lopez-Brea

Zinpro Animal Nutrition, Akkerdistel 2E, 5831 PJ Boxmeer, NL

Einleitung

Klauenverletzungen beeinträchtigen das Wohlbefinden der Sau, vermindern die Produktivität und können zu erheblichen wirtschaftlichen Einbußen führen. Erfahrungen aus der Praxis bei tragenden Sauen lehren, dass beim Übergang von der Haltung in Kastenständen auf Gruppenhaltung die Häufigkeit von Klauenverletzungen zunimmt. Sämtliche tragenden Sauen innerhalb der Europäischen Union müssen ab dem 1. Januar 2013 in Gruppen gehalten werden (Richtlinie 2001/88/EG). Für die Bildung von widerstandsfähigem Klauenhorn sind Zink und Kupfer essentiell (Tomlinson et al., 2004). Mangan ist erforderlich für die Bildung von Knochen und Knorpel und kann somit indirekt, zum Beispiel über eine Fehlstellung der Gliedmaßen, die Klauengesundheit beeinflussen. Während die Würfe immer grösser werden, steigt die Futtermittelaufnahme der Sau nicht in gleichem Maße an. Die Spurenelementreserven der Sau nehmen mit steigender Wurfmasse ab (Mahan and Newton, 1995). Des Weiteren sind durch den Gesetzgeber die Gesamtgehalte an Kupfer und Zink im Sauenfutter auf 25 bzw. 150 mg pro Kilogramm begrenzt (Verordnung [EG] Nr. 1334/2003). Eine Verminderung von Klauenverletzungen durch den Ersatz von anorganischen durch organisch gebundene Spurenelemente bei Kühen ist in der Literatur bereits beschrieben (Ballantine et al. 2002, Nocek et al. 2000, Nocek et al. 2006, Siciliano-Jones et al. 2008).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war die Abschätzung der Wirkung einer Kombination von organisch gebundenem Kupfer, Mangan und Zink auf die Häufigkeit sowie den Schweregrad von Klauenverletzungen bei Sauen in Gruppenhaltung unter Praxisbedingungen.

Material und Methoden

In 15 Sauenherden (Deutschland: 6, Spanien: 6, Niederlande: 2, Belgien: 1) sind bei insgesamt 945 Sauen in den Abferkelabteilen beide Hinterfüße auf Klauenverletzungen nach einem einheitlichen Schema (siehe Tabelle 1) bonitiert worden. Die Herdengröße betrug zwischen 120 und 2700 Sauen. Die tragenden Sauen wurden in 12 Herden in Gruppen gehalten während Sie bei 3 Herden in Kastenständen aufgestellt waren. Bis zur ersten Bonitierung erfolgte die Spurenelementergänzung in sämtlichen Sauenfuttern in allen Herden allein durch anorganische Formen. Nach der ersten Bonitierung wurde in allen Herden sowohl im Futter für laktierende als auch tragende Sauen ein Teil des anorganischen Kupfers (10 mg/kg), Mangans (20 mg/kg) und Zinks (50 mg/kg) durch organische Formen (Availa®Sow, Zinpro, Eden Prairie, USA) ersetzt. Sechs Monate nach der ersten Bonitierung wurde eine weitere Beurteilung der Klauen nach dem gleichen Schema wie bereits beschrieben, durchgeführt.

Tabelle 1: System zur Bonitierung von Schweineklauen

Abweichung	Ballenwucherung und Ballenrisse	Risse im Übergang Ballen/Sohle	Weißer Linie	Wandriss waagrecht	Wandriss senkrecht
ohne	ohne Abweichung	Ohne Abweichung	Ohne Abweichung	Ohne Abweichung	Ohne Abweichung
leicht	Leichte Wucherung und/oder kleine Risse im Ballenbereich	Kleiner Riss im Übergang	Flacher und/oder kurzer Riss entlang der Weißen Linie	Bluterguss sichtbar; kurzer flacher waagrechter Riss in der vorderen Wand	Kurzer/flacher senkrechter Riss in der Wand
mäßig	Zahlreiche Risse und deutlich ausgeprägte Wucherung	Langer Riss im Übergang	Langer Riss entlang der Weißen Linie	Langer aber flacher waagrechter Riss in der vorderen Wand	Langer aber flacher Riss in der Wand
schwer	Starke Wucherung und großflächige Risse	Langer und tiefer Riss im Übergang	Langer und tiefer Riss entlang der Weißen Linie	Mehrere oder tiefer waagrechter Riss(e) in der vorderen Wand	Mehrere oder tiefer senkrechter Riss(e) in der Wand

Quelle: Klauenbeurteilungshilfe entwickelt im Rahmen des Feet First® Projektes

Ergebnisse und Diskussion

Der durchschnittliche Anteil ausgewählter Klauenverletzungen ist in Tabelle 2 dargestellt. Ballenwucherungen und -risse waren die am häufigsten vorkommenden Abweichungen der Klauen. Sie traten in mäßiger und schwerer Form bei 55,7 % der Füße von Sauen mit anorganischen Spurenelementen im Futter auf, während lediglich 22,9 % betroffen waren wenn organische Spurenelemente gefüttert wurden. Mäßige und schwere Risse gingen am Übergang Ballen/Sohle von 23,9 auf 8,0 und in der Weißen Linie von 24,4 auf 8,6 % zurück wenn organische Spurenelemente ergänzt wurden im Vergleich zur Fütterung von anorganischen Spurenelementen.

Klauenverletzungen die weniger häufig vorkamen waren waagrechte und senkrechte Risse in der Klauenwand. Hier lag der Anteil insgesamt betroffener Füße zwischen 16,4 und 6,5 %. Mäßige und schwere Formen von waagrechten Wandrissen gingen von 7,9 auf 4,0 und senkrechte Wandrisse von 7,4 auf 2,7 % zurück nach teilweisem Ersatz von anorganischen durch organische Spurenelemente.

Tabelle 2: Durchschnittlicher Anteil Sauenfüße (%) mit ausgewählten Klauenverletzungen bei Fütterung ohne oder mit organischen Spurenelementen

Klauenverletzungen	anorganische Spurenelemente					mit organischen Spurenelementen				
	ohne	leicht	mäßig	schwer	mäßig & schwer	ohne	leicht	mäßig	schwer	mäßig & schwer
	% Füße					% Füße				
Ballenwucherung & Ballenrisse	15,7	28,6	32,3	23,4	55,7	41,5	35,6	15,7	7,3	22,9
Risse Ballen/Sohle	62,9	13,1	14,3	9,6	23,9	79,3	12,8	5,5	2,4	8,0
Weißer Linie	60,8	14,8	14,1	10,3	24,4	81,7	9,7	6,5	2,1	8,6
Wandriss waagrecht	83,6	8,6	4,6	3,3	7,9	90,5	5,5	2,6	1,4	4,0
Wandriss senkrecht	87,1	5,4	2,7	4,8	7,4	93,5	3,8	1,3	1,4	2,7

Daten zur Wirkung der Spurenelementergänzung im Futter auf die Klauengesundheit von Sauen sind in der Literatur kaum zu finden. Die Verminderung von Klauenverletzungen ist ein Indikator für die Verbesserung der Klauengesundheit. Der in der vorliegenden Studie beobachtete Rückgang von Klauenverletzungen bestätigt Untersuchungen von Anil et al. (2010), die nach teilweisem Ersatz von anorganischen durch organische Spurenelemente ebenfalls eine Abnahme von Abweichungen an den Klauen sowie einen Rückgang von Lahmheit beobachteten. Zink und Kupfer sind essenziell für die Bildung von Keratin, einem Strukturprotein, das Hauptbestandteil des Klauenhorns ist. Bei einem Mangel dieser Elemente kann es zur Bildung von minderwertigem Keratin und somit zur Beeinträchtigung der Klauenhornqualität kommen. Die Verbesserung der Klauengesundheit in der vorliegenden Studie ist wahrscheinlich auf eine verbesserte Versorgung mit Zink und Kupfer, wenn diese Elemente in organischer Bindungsform gefüttert werden, zurückzuführen.

Schlussfolgerungen

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass durch die Fütterung von organisch gebundenem Zink, Mangan und Kupfer die Klauengesundheit bei Sauen verbessert werden kann.

Literatur

Anil et al., 2010. *J. Anim. Sci.* Vol. 88 (E-Suppl. 2): p. 127.

Ballantine, H. T., M. T. Socha, D. J. Tomlinson, A. B. Johnson, A. S. Fielding, J. K. Shearer and S. R. Van Amstel. 2002. Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction and lactation performance. *The Professional Animal Scientist* 18:211-218.

Mahan, D.C. und E.A. Newton. 1995. Effect of initial breeding weight on macromineral and micromineral composition of over a 3-parity period using a high-producing sow genotype. *Journal of Animal Science*, 73(1):151-158.

Nocek, J. E., A. B. Johnson and M. T. Socha. 2000. Digital characteristics in commercial dairy herds fed metal-specific amino acid complexes. *J. Dairy Sci.* 83:1553-1572.

Nocek, J. E., M. T. Socha and D. J. Tomlinson. 2006. The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:2679-2693.

Richtlinie 2001/88/EG des Rates vom 23. Oktober 2001 zur Änderung der Richtlinie 91/630/EWG über Mindestanforderungen für den Schutz von Schweinen. *Amtsblatt Nr. L 316 vom 01/12/2001 S. 0001 – 0004.*

Siciliano-Jones, J.L., M.T. Socha, D.J. Tomlinson, and J.M. DeFrain. 2008. Effect of Trace Mineral Source on Lactation Performance, Claw Integrity, and Fertility of Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 91:1985-1995.

Tomlinson, D.J., C.H. Mülling und T.M. Fakler. 2004. Invited Review: Formation of keratins in the bovine claw: Roles of hormones, minerals and vitamins in functional claw integrity. *J. Dairy Sci.* 87:797-809.

Verordnung (EG) Nr. 1334/2003 der Kommission vom 25. Juli 2003 zur Änderung der Bedingungen für die Zulassung einer Reihe von zur Gruppe der Spurenelemente zählenden Futtermittelzusatzstoffen. *Amtsblatt Nr. L 187 vom 26.7.2003 S. 11 – 15.*

Autorenanschrift

Dr. Christof Rapp
Zinpro Animal Nutrition, Inc.
Akkerdistel 2^E; 5831 PJ Boxmeer, Niederlande
E-Mail: christof.rapp@zinpro.com

Influence of organic and inorganic selenium on egg quality, fatty acid profile and malondialdehydes concentration by using different oils in the hen feeding

**V. Buckiuniene¹, R. Gruzauskas¹, A. Raceviciute-Stupeliene¹,
V. Kliseviciute¹, G. Svirnickas² and S. Bliznikas²**

¹ Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy. Kaunas, LT

² Lithuanian University of Health Sciences Institute of Animal Science of Veterinary Academy, Baisiogala, Radviliskis district., LT

Introduction

Laying hens egg are well established as an excellent source of all essential nutrients for persons of all ages. However, egg fatty acid composition has been associated with human health problems. Many people have been limiting their egg consumption because they associate high cholesterol content in this food with cardiovascular diseases (Meluzzi et al. 2000; Kim et al. 2004). Animal products such as meat, milk and egg play an important role in human nutrition. In recent years people have become increasingly aware of the quality of their food. Due to increasing public demand for animal products low in fat and cholesterol, studies have been focusing on improving the quality of foods from animal origin (Hargis and Van Elswyk, 1993; Newman et al. 2002; Basmacioğlu et al. 2003).

Oil sources because of their high energy content, palatability, effects on intake feed, lower heat production, and vitamin contented have suitable effects on hen performance (Al-Daraji et al. 2011). Besides, diet which are containing fats or oils are shown to change the fatty acid composition of egg yolk in laying hens (Citil et al. 2011). Anti-oxidant agents such as vitamin E (Açıkgöz et al. 2011) or selenium (Skřivan et al. 2008) must be presented in high oil included diets to prevention of occurrence oxidative damages arise from unsaturated fatty acids oxidation.

Selenium is an essential trace element that is indispensable for normal functioning of the body and thus plays a critical role in the maintenance of optimal health. Currently, the US and Canadian recommended dietary allowance (RDA) for human adults is 55 µg/d (Bennett et al. 2010). In fact, eggs have been shown to be an effective vehicle for supplementing Se in the diet (Surai et al. 2007).

Using oils in poultry nutrition is noted the different nutrient value, which depends on MUFA, PUFA, ratio of omega-3 and omega-6. The data of different oils, selenium and vitamin E are less, influence in quality of eggs.

The aim of this study was to investigate the effects of dietary supplemented sunflower oil and rapeseed oil with organic and inorganic selenium on laying hens eggs qualitative parameters, fatty acid profile and malondialdehydes concentration on the egg yolk.

Material and methods

Feeding trial was conducted with laying hens of *Lohmann Brown* strain at the age of 22 weeks. The laying hens were divided into 4 groups, 10 laying hens in each group. I group is the control group which was added sunflower oil 4.5%+0.5 mg Na₂SeO₃ + 40 mg/kg vit. E (T1) and II group was also control group, added rapeseed oil 4.5%+0.5mg Na₂SeO₃ + 40 mg/kg vit. E (T2) in, III (experimental)

group - sunflower oil + Alkose[®]R397 0.5 mg + 40 mg/kg vit. E (T3) and IV (experimental) group - rapeseed oil + Alkose[®]R397 0.5 mg + 40 mg/kg vit. E (T4). During the feeding trial, the laying hens were held in the individual cages with stationary drinking-bowl and feed box under the same feeding and holding conditions. The laying hens were fed with compound feed 125 g per day (NRC, 1994).

Egg weight, albumen high, Haugh unit, intensity of egg yolk color are established by multifunctional automatic egg characteristics analyzer „Egg Multi-Tester EMT-5200“, hardness of eggshell – by „Egg Shell Force Gauge MODEL-II“ device, and thickness of eggshell – by electronic micrometer „MITUTOYO“.

The concentration of MDA determined by HPLC system. Extraction of lipids for fatty acid analysis was performed with chloroform/methanol (2:1 v/v) as described by Folch et al. (1957). Fatty acid methyl esters (FAME) were prepared using the procedure of Christopherson and Glass (1969).

Lipid quality indices, i.e., atherogenic index (AI) and thrombogenicity index (TI), were calculated according to Ulbricht and Southgate (1991).

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

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

Peroxidizability index was determined according to Witting L. A. ir Horwitt M. K. (1964) methods and calculated by formula:

$$IP = (0.025 \times \text{monoenoic acid}) + (1 \times \text{dienoic acid}) + (2 \times \text{trienoic acid}) + (4 \times \text{tetraenoic acid}) + (6 \times \text{pentaenoic acid}) + (8 \times \text{hexaenoic acid})$$

hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic ratio (h/H) was determined by Fernández et al. (2007).

Statistical Analysis. The results of the experiment were analysed using the 1-way ANOVA test, and significant differences between groups were determined by Duncan's multiple range test. Statistica 8.0. for Windows[™] software was used. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

Results

Qualitative research results of laying hens of 22-30 weeks of age are presented in Table 1. The egg weight increased in experimental groups from 3 to 4% ($P > 0.05$) compared to control groups.

Table 1: Effect of different oils, selenium in the diet on the egg quality parameters (per all period)

Parameters	T1	T2	T3	T4
Egg weight, g	60.99±4.97	62.80±4.63	63.12±1.09	63.14±5.73
Eggshell hardness, kg/m ²	3.691±1.01	3.792±0.79	4.001±0.82	3.702±0.75
Albumen height, mm	7.30±2.02	7.17±2.22	7.14±2.24	7.74±2.59
Haugh unit	82.49±16.78	80.95±17.57	80.95±18.00	85.87±18.14
Yolk color intensity	2.09±0.51	2.16±0.69	2.78±0.68	2.69±0.63
Eggshell weight, g	5.534±0.62	5.681±0.51	5.862±0.81	5.611±0.66
Eggshell thickness, mm	0.36±0.04	0.36±0.03	0.36±0.05	0.35±0.04

The eggshell hardness in T3 experimental group increased 8%, compared with control group T1 ($P > 0.05$). Height of albumen in T3, decreased 2%, but T4 increased by 6% ($P > 0.05$) compared to control groups (T1 and T2). When analyzed Haugh unit in T3 group it decreased 2% ($P > 0.05$), compared with control group T1 but in experimental group T4 Haugh unit increased 6% ($P > 0.05$), compared to control group T2. The feed supplement with different oils, selenium and vitamin E had no

effect on the intensity of yolk color. Weight of eggshell in T3 experimental group increased 6% ($P>0.05$), compared to control group T1, but T4 experimental group it decreased 1% ($P>0.05$) compared with control group T2. The thickness of eggshell had no statistical significance.

The fatty acid profile for the samples from 4 treatments groups are presented in Table 2. The total of saturated fatty acid profile were significant in T4 treatment group ($P<0.05$), compared to control group T2. Monounsaturated fatty acid deposition in egg yolk decreased T4 group 0.85% ($P>0.05$), compared to control group T2. Whereas PUFA amount decreased significantly also in T4 experimental group 1.28% ($P<0.05$), compared to control group T2, but experimental group T3 it decreased 0.93% ($P>0.05$), compared to control group T1. PUFA and SFA ratio was statistically significant in T4 group ($P<0.05$). The highest peroxidizability index was determined in T3 group – 9% ($P>0.05$) increased compared to control group (T1). The highest hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic ratio (h/H) was determined in T4 group; it increased 2% ($P<0.05$) compared to control group (T2).

Table 2: Effect of different oils, selenium in the diet on the fatty acids concentration of content of egg yolk (%)

Fatty acid	T1	T2	T3	T4
Total of saturated fatty acid (SFA)	31.13±0.42	29.10±0.14	30.74±0.85	28.68±1.07*
Total of mono unsaturated fatty acid (MUFA)	42.76±1.71	50.02±0.89	42.37±1.59	49.17±1.26
Total of polyunsaturated fatty acid (PUFA)	25.54±1.47	20.61±0.90	26.47±1.41	21.89±0.37*
PUFA/SFA	0.82±0.04	0.71±0.03	0.86±0.05	0.76±0.03*
Total of omega-6 fatty acid	24.61±1.43	18.54±0.76	24.84±1.36	19.35±0.36*
Total of omega-3 fatty acid	0.93±0.15	2.07±0.20	1.63±0.77*	2.54±0.07*
Total of omega-6/total omega-3 fatty acid ratio	27.08±4.32	9.01±0.76	17.19±5.20*	7.61±0.26*
IA	0.34±0.01	0.31±0.01	0.33±0.01	0.31±0.02*
IT	0.84±0.02	0.71±0.01	0.79±0.02	0.67±0.04
h/H	2.93±0.06	3.17±0.09	3.02±0.09	3.22±0.21
IP	37.6±1.96	36.0±1.50	40.9±2.84	39.4±0.83

* data statistical significantly ($P<0.05$)

Table 3: Effect of different oils, selenium in the diet on the malondialdehydes concentration of content of egg yolk (%)

Parameters	T1	T2	T3	T4
Fresh egg yolk	0.216	0.204*	0.232*	0.226
Storage at 28 days of egg yolk	0.300	0.322	0.406	0.398*

* data statistical significantly ($P<0.05$)

For all dietary treatments, yolk lipid oxidation increased from 7 to 11% ($P<0.05$) in fresh egg yolk, but in 28 days storage time MDA concentration increased from 33 to 35% ($P<0.05$) compared to control groups (Table 3). Franchini et al. (2002) also reported an increase in the TBARS values when the eggs were stored for 90 days at 4 °C. In the present study, TBARS values oscillated between 0.47 and 1.40 mg MDA kg⁻¹ yolk. These values were lower than those obtained by Lakins et al. (2009), when eggs were stored at 4 °C for 30 days.

Discussion

Eggs are a good source of nutrients. With a moderate enrichment of nutrients according to the recommendations for fortification of foods, eggs could play an important role as a functional food (Sparks N.H.C. 2006). Egg quality is understood as the set of factors that are responsible for its acceptance by

the consumer, and in compliance with legislation requirements (Brasil, 1991). Quantitative and qualitative factors must be considered when determining final quality attributed of commercial eggs.

The nutritional quality of eggs and the amount of fatty acids present in the egg yolk may be modified according to the lipid sources (different vegetable oils) used in the diets for feeding laying hens. However, it is important to mention that in addition to diet, the breed and age of the laying hen may also alter the lipid composition of egg yolks (Whitehead et al. 1991; Shafey et al. 1992; Scheideler et al. 1998; Meluzzi et al. 2000; Mazalli et al. 2004; Pardžo et al. 2005; Wu et al. 2005; Ribeiro et al. 2007).

The analysis of TBARS is an important food quality index indicating fat oxidation. In perfect quality products, TBARS values should be less than 3 mg malondialdehyde/kg (Cadun et al. 2005).

Franchini et al. (2002) also reported an increase in the TBARS values when the eggs were stored for 90 days at 4 °C. In the present study, TBARS values oscillated between 0.47 and 1.40 mg MDA kg⁻¹ yolk. These values were lower than those obtained by Lakins et al. (2009), when eggs were stored at 4 °C for 30 days.

Conclusion

The results of this study clearly demonstrate that supplementation of different oil sources, organic and inorganic selenium and vitamin E does not create statistically significant effects on egg quality parameters, but effect on egg yolk fatty acid, specially on polyunsaturated fatty acid composition decreased significantly in T4 experimental group 1.28% (P<0.05), compared to control group T2, but experimental group T3 it decreased 0.93% (P>0.05), compared to control group T1. PUFA and SFA ratio statistically significant was just in T4 group. Influence of omega-6/omega-3 ratio had more effect on organic selenium, when in laying hens were used sunflower oil. Total of omega-6/total of omega-3 ratio in T3 experimental group decreased 9.89 % (P<0.05) compared to control group (T1) and in experimental group T4 it decreased 1.40% (P<0.05) compared to control group (T2). Malondialdehydes concentration of egg yolk in all experimental groups mostly increased after 28 days storage, it was from 33 to 35% (P<0.05) compared to control groups (T1 and T2).

Acknowledgement

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

References

- Açıkgöz, Z., Bayraktar H., Altan Ö., Tanriverdi Akhisaroglu S., Kirkpınar F. and Altun Z. (2011): The effects of moderately oxidized dietary oil with or without vitamin E supplementation on performance, nutrient digestibility, some blood traits, lipid peroxidation and antioxidant defence of male broilers. *J. Sci. Food. Agri.*, 91: 1277-1282.
- Al-Daraji HJ, Hazim J. H.A. Al-Mashadani, H.A. Mirza, W.K. Al-Hayani and A.S. and Al-Hassani. (2011): Influence of Source of Oil Added to Diet on Egg Quality Traits of Laying Quail *International Journal of Poultry Science*, 2011, 10, 130-136.
- Basmacıoğlu, H., Çabuk, M., Ünal, K., Özkan, K., Akkan, S. and Yalçın, H. (2003): Effects of dietary fish oil and flax seed on cholesterol and fatty acid composition of egg yolk and blood parameters of laying hens. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 33, 266-273.
- Bennett D. C. and Cheng K. M. (2010): Selenium enrichment of table eggs. *Poultry Science* 89: 2166–2172 doi: 10.3382/ps.2009-00571.
- Bozkurt M, Abuk M. C., and Alcicek A. (2008): Effect of dietary fat type on broiler breeder performance and hatching egg characteristics. *Journal of Applied Poultry Research* 17, 47-53.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução CIPOA n° 005, de 19 de novembro de 1991. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil* n° 78. Brasília; 1991.

- Cadun, A., Cakli, S. and Kislá, D. (2005): A study of marination of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) and its shelf life. *Food Chemistry*, v. 90, n. 1-2, p. 53-59.
- Christopherson S.W. and Glass R.L. (1969): Preparation of milk fat methylesters by alcoholysis in an essentially nonalcoholic solution. *J. Dairy Sci.* 52: 1289–1290.
- Citil ÖB, Yıldırım İ. and Parlat S. S. (2011): The effects of dietary flaxseed oil supplementations on fatty acids composition of the yolks in quail (*Coturnix coturnix japonica*) eggs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17 (5): 761-766.
- Fernández M., Ordóñez J.A., Cambero I., Santos C., Pin C. and De la Hoz L. (2007): Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chemistry*. 101: 107–112.
- Folch J., Less M. and 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.
- Franchini, A. et al. (2002): Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. *Poultry Science*, v. 81, n. 11, p. 1744-1750. PMID: 12455604.
- Hargis, P.S. and Van Elswyk, M.E. (1993): Manipulating the fatty acid composition of poultry meat and eggs for health conscious consumer. *World's Poult. Sci. J.* 49, 251-264.
- Kim, J. H. et al. (2004): Oral administration of pravastatin reduces egg cholesterol but not plasma cholesterol in laying hens. *Poultry Science*, v. 83, n. 9, p. 1539-1543. PMID:15384905.
- Küçükersan K., Yeşilbağ D. and Küçükersan S. (2010): Influence of Different Dietary Oil Sources on Performance and Cholesterol Content of Egg Yolk in Laying Hens. *J. BIOL. ENVIRON. SCI.*, 4(12), 117-122 122
- Lakins, D. G. et al. (2009): Comparison of quality attributes of shell eggs subjected to directional microwave technology. *Poultry Science*, v. 88, n. 6, p. 1257-1265, PMID:19439638. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2008-00273>
- Mazalli, M. R., D. E. Faria, D. Salvador, and D. T. Ito. (2004): A comparison of the feeding value of different sources of fat for laying hens: 2. Lipid, cholesterol, and vitamin E profiles of egg yolk. *J. Appl. Poult. Res.* 13:280–290.
- Meluzzi, A., Sirri F., Manfreda G, Tallarico T., and Franchini A. (2000): Effects of dietary vitamin E on the quality of table eggs enriched with n-3 long chain fatty acids. *Poult. Sci.* 79:539–545.
- Newman, R.E., Bryden, W.L., Fleck, E., Ashes, J.R., Buttemer, WA., Storlien, L.H. and Downing, J.A. (2002): Dietary n-3 and n-6 fatty acids alter avian metabolism: metabolism and abdominal fat deposition. *Br. J. Nutr.* 88, 11-18.
- NRC – National Research Council (1994): Nutrient requirements of poultry. 9th ed. National Academy Press Washington, D.C., USA.
- Pardjo, V. T., L. A. Landjñ, K. N. Waliszewski, F. Pérez-Gil, L. Dkaz, and Hernjñdez B. (2005): The effect of soybean soapstock on the quality parameters and fatty acid composition of the hen egg yolk. *Poult. Sci.* 84:148–157.
- Ribeiro, B. R. C., L. J. C. Lara, N. C. Baiço, C. A. A. Lopez, M. A. Fiuza, S. V. Canēado, and Silva G. M. M. (2007): Efeito do nvel de cido linolico na raeco de matrizes pesadas sobre o peso, composico e eclosco dos ovos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59:789–796.
- Scheideler, S. E., Jaroni D., and Froning G. (1998): Strain and age effects on egg composition from hens fed diets rich in n-3 fatty acids. *Poult. Sci.* 77:192–196.
- Shafey, T. M., Dingle J. G., and McDonald M. W. (1992): Comparison between wheat, triticale, rye, soybean oil and strain of laying bird on the production, and cholesterol and fatty acid contents of eggs. *Br. Poult. Sci.* 33:339–346
- Siegel, P. B. Blair, M. Gross, W. B. Meldrum, B. Larsen, C. Boa-Amponsem, K. and Emmerson, D. A. (2006): Poultry performance as influenced by age of dam, genetic line, and dietary vitamin E. *Poultry Science* 85, 939–942.
- Skřivan M, Dlouha G, Mašata O. and Ševčikova S. (2008): Dietary selenium increases vitamin E contents of egg yolk and chicken meat *Czech Journal of Animal Science*, 53, 306–311.
- Sparks N.H.C. (2006): The hen's egg - is its role in human nutrition changing? *World Poult. Sci. J.* 62: 308-315.
- Surai, P. F., Papazyan T. T., Speake B. K., and Sparks N. H. C. (2007): Enrichment in selenium and other trace elements. Pages 183–190 in *Bioactive Egg Compounds*. R. Huopalahti, R. Lopez- Fandinño, and M. Anton, R. Schade, ed. Springer-Verlag Berlin, Germany.
- Ulbricht T.L.V. and Southgate D.A.T. (1991): Coronary disease seven dietary factors. *Lancet.* 338: 117-992.
- Whitehead, C. C., Bowman A. S., and Griffin H. D. (1991): The effects of dietary fat and bird age on the weights of eggs and egg components in the laying hen. *Br. Poult. Sci.* 32:565–574

Witting L.A. and Horwitt M.K. (1964): Effect of Degree of Fatty Acid Unsaturation in Tocopherol Deficiency-induced Creatinuria. *J. Nutr.* 82(1): 19–33.

Wu, G., Bryant M. M., Voitle R. A, and Roland D. A. (2005): Effect of dietary energy on performance and egg composition of Bovans White and Dekalb White hens during phase I. *Poult. Sci.* 84:1610–1615.

Corresponding author

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

Beiträge von hofeigenem und zugekauftem Futter zur Gesamtelementfracht für die Fütterung von Milchkühen in drei Regionen Niederösterreichs

Manfred Sager und Manuela Hobegger

AGES Wien, AT

Einleitung

Die Futterrationen für Milchkühe werden ausgehend von Nährwert und Rohfaseranteil bemessen. Grundfutter, wie Gras, Heu, Grassilage, Maissilage und Kraftfutter, haben landwirtschaftliche Betriebe aus wirtschaftlichen Gründen in der Regel selber, es stammt so wie das Tränkewasser aus der Region. Hierzu kommt oft zugekauftes Ergänzungsfutter und Mineralmischungen, die essentielle Spurenelemente und andere Wirkstoffe enthalten.

Bei der Berechnung der optimalen Spurenelementversorgung wird die im Grundfutter vorhandene Menge zuweilen vernachlässigt, weil sie im Detail nicht bekannt ist. Eine Überdosierung von z.B. Cu, Zn, Mo, Co oder Cr ist für den Landwirt ein ökonomischer Verlust und belastet Innereien und Umwelt.

Im Rahmen einer Studie wurde versucht, regionale Unterschiede in der Zusammensetzung von Kuhmilch zwischen geologisch verschiedenen Regionen zu finden, um die Herkunft durch Analysen nachvollziehen zu können, und dies gegebenenfalls durch die Zusammensetzung des Futters und des Tränkewassers zu erklären. Für die regionale Zuordnung spielen sicher die physiologisch minder aktiven Elemente eine größere Rolle, weil sie durch den Stoffwechsel der Kuh und auch der Futterpflanzen weniger reguliert werden. Für einige Elemente ist der Bedarf bekannt. Er wird für die Hauptelemente in g/Tag und für die Spurenelemente in mg/kg angegeben. In dieser Auswertung soll gezeigt werden, in welchen Regionen das Grundfutter den Elementbedarf der Milchkuh erfüllt, sollte die Verfügbarkeit nicht unerwartet schlechter sein.

Material und Methoden

Gleichzeitig mit den Milchproben wurden 70 für Milchkühe bestimmte Futtermittelproben am Hof durch Organe des Landeskontrollverbandes NÖ gezogen, und zwar in den Regionen Waldviertel, Alpenvorland (Molassezone) und Kalkalpen, sowie auch das Tränkewasser. Es handelt sich überwiegend um Grundfutter, welches nicht der amtlichen Futtermittelkontrolle unterliegt. Darin wurden 42 Elemente nach Druckaufschluss mit ICP-OES bzw. ICP-MS Multi-Elementmethoden bestimmt, und die Werte für Heu, Grassilage, Maissilage und Kraftfutter auf Basis Trockenmasse miteinander verglichen, sowie regionale Unterschiede gesucht. Die aus verschiedenen Futterkomponenten verabreichte Ration wurde in Erhebungsbögen dokumentiert.

Die Menge des aufgenommenen Futters wurde aus der Milchleistung mit $20,2 \pm 1,3$ kg geschätzt, und es wurde ein Konsum von 100 Liter Tränkewasser angenommen.

Ergebnisse

Wasser

Obwohl Kühe etwa 100 Liter Wasser pro Tag trinken, was sicher lokalen Ursprungs ist, macht das Wasser im Durchschnitt der Tagesration nur 4,05% beim Li, 3,86 % beim Sr, 3,67 % beim Na, 2,82 % beim Mg, 2,57% beim Ca, und bei allen anderen noch weniger aus. Besonders gering sind die Anteile bei K, Mn und P.

Zusammensetzung des Grundfutters

Die Analyse der Futtermittel umfasst normalerweise neben Nährwert und Rohfaser die Haupt- und Nährelemente, vor allem die als Zusatz deklarierten Anteile, hingegen sind Daten über lokal generiertes Grundfutter sind hingegen eher selten. Für die meisten Elemente waren die Konzentrationen in Heu und Grassilage etwa gleich, und viel höher als in Maissilage und Kraftfutter (alphabetisch): Al, Ba, Cd, Cs, Fe, K, La, Li, Mn, Mo, Pb, Rb, Sr. In Grassilage und Heu streuten jedoch Al, Fe und Mo stark. Das Kraftfutter hatte maximal Phosphor, und minimal K, Na und Si. Die Maissilage hatte deutliche Minima in P, S und Zn. Bei einigen Kraftfutterproben aus der Molasseregion könnte auch Cu, Mn, Na und Se und Zn zugesetzt worden sein, da diese deutlich höher als in Kraftfutter aus den anderen Gebieten waren.

Hingegen überwogen regionale Unterschiede bei Bor, Cu, Jod, Se, sowie den Elementverhältnissen Ca/Sr, K/Rb, und Li/Cs. Calcium war in den Kalkalpen nur in Grassilage und Kraftfutter höher, nicht aber in der (dort seltenen) Maissilage und im Heu.

Die Verhältnisse K/Rb und Li/Cs stiegen vom Waldviertel zur Molassezone und zu den Kalkalpen in allen 4 Futtertypen an, ebenso das Bor bei Grassilage. Das Verhältnis Ca/Sr sowie Cd waren in den Kalkalpen immer etwas höher als woanders. Na, Jod und Se waren in der Molassezone deutlich höher, was, zumindest für Na, durch die höhere Besiedlungsdichte erklärbar ist, wie auch schon früher bei Gülle und Komposten gefunden wurde.

Im Waldviertel hatte Rb ein Maximum, hingegen Li, La und Pb ein Minimum.

Die in der Milch gefundenen höheren Ba und Cs Werte aus dem Waldviertel spiegeln sich im Grundfutter nicht wieder.

Relative Anteile an der Elementfracht

Laut Angaben der Landwirte betrug der Anteil, der Grassilage an der Ration im Schnitt 50%, von Maissilage 27,4%, von Heu 15,7%, von Kraftfutter 14,9 % und von Mineralfutter nur 0,37%. Aus den Mineralmischungen kamen erheblich Anteile an Se>Co>Cu>Zn>Na.

Überdurchschnittlich hohe Anteile an der Elementfracht kamen aus der Grassilage für K>B>Si>Al>Ba, aus dem Heu für Cr>Ni>Mo>Al> Ba, aus dem Kraftfutter nur für P und aus der Maissilage nur für Si.

Die Anteile an Futterkomponenten sind allerdings regional verschieden:

Tabelle 1: Geschätzte Anteile an Grundfutterarten in % Ist-Masse

	Heu	Grassilage	Maissilage	Kraftfutter
Waldviertel	7	54	15	21
Molassezone	7	19	35	14
Kalkalpen	22	48	*	7

Nur 1 Betrieb von 6 fütterte Maissilage, mit 11 % Anteil

Deckung des Spurenelementbedarfs durch Grundfutter

Unter der Annahme, dass dieselbe Trockenmasse an reinem Heu, Grassilage, Maissilage oder Grundfutter verzehrt wird (was natürlich nicht dem gleichen Nährwert entspräche), wurde aus den darin enthaltenen Mengen und dem tabellierten Bedarf die Prozent an Deckung errechnet. Das Wasser spielt dabei fast keine Rolle. Da die relativen Schwankungen der Zusammensetzung, je nach Region und Futtermitteltyp, 3 – 200 % betragen, kann es sich nur um eine Schätzung handeln.

Hinsichtlich der Hauptelemente würden Heu und Grassilage den Bedarf bis auf Natrium erfüllen. Die Deckung des Na-Bedarfs ist am schlechtesten, Maissilage enthält daneben auch zuwenig Ca und S. Das Kraftfutter deckt den Bedarf an Ca, K und Na nirgends, wird aber ohnehin wegen des Mangels an Rohfaser nicht zu 100% eingesetzt. Der höhere Na-Pegel in der Molassezone ist auch hier sichtbar.

Tabelle 2: Bedarfsdeckung für Hauptelemente aus dem Grundfutter

% Bedarf		Ca	K	Mg	Na	P	S
g/Tag für 20 kg:		82	164	25	21	51	32
Region	Futterart						
Waldviertel	Wasser	2,1	0,1	1,5	2,9	< 0,1	1,2
Molasse	Wasser	4,2	< 0,1	8,4	8,9	< 0,1	3,0
Kalkalpen	Wasser	6,7	< 0,1	6,1	0,3	< 0,1	0,6
Waldviertel	Heu	110	308	141	13,7	116	140
Molasse	Heu	126	224	158	20,5	119	121
Kalkalpen	Heu	151	226	164	19,5	81	98
Waldviertel	Grassilage	193	364	200	25,0	142	131
Molasse	Grassilage	214	294	235	80,3	156	101
Kalkalpen	Grassilage	223	303	243	13,7	95	110
Waldviertel	Maissilage	73	82	129	1,6	94,5	84
Molasse	Maissilage	46	102	111	1,3	80,3	62
Kalkalpen	Maissilage	146	220	152	8,0	104,6	108
Waldviertel	Kraftfutter	47	51	114	52,2	161	107
Molasse	Kraftfutter	101	58	165	74,1	182	106
Kalkalpen	Kraftfutter	57	81	98	7,0	260	80

Bei den Spurenelementen weist die Maissilage diverse Defizite auf, sonst ist die Versorgung von Co, Fe und Mn weitgehend gegeben. Nach dieser Bedarfsschätzung wären Cu, Zn und Se durchwegs zu supplementieren, im Waldviertel auch Jod.

Tabelle 3: Bedarfsdeckung für Spurenelemente aus dem Grundfutter

% Bedarf		Co	Cu	Fe	J	Mn	Se	Zn
	mg/kg:	0,2	10	50	0,5	50	0,2	50
Region	Futterart							
Waldviertel	Heu	72	78	638	41	177	4,3	68
Molasse	Heu	146	57	875	173	208	7,7	59
Kalkalpen	Heu	228	72	1283	207	212	16,2	63
Waldviertel	Grassilage	163	81	1199	35	181	16,4	61
Molasse	Grassilage	410	107	2232	111	220	49,6	65
Kalkalpen	Grassilage	146	75	1213	110	195	4,0	64
Waldviertel	Maissilage	20	48	247	25	61	3,2	38
Molasse	Maissilage	11	59	173	77	46	3,8	41
Kalkalpen	Maissilage	37	51	321	37	137	<0,1	43
Waldviertel	Kraftfutter	50	58	357	21	77	4,2	84
Molasse	Kraftfutter	289	160	220	510	151	60,7	277
Kalkalpen	Kraftfutter	24	75	187	17	135	30,6	104

Zusammenfassung

Die Grundfutterarten tragen in verschiedenem Ausmaß zur von Milchkühen aufgenommenen Elementfracht bei. Regionale Unterschiede in der Zusammensetzung äußern sich besonders in den Verhältnisse K/Rb, Li/Cs und Ca/Sr. Die Zusammensetzung der Futtermischung ist ebenfalls regional unterschiedlich, wie auch die geschätzte Deckung des Bedarfs an essentiellen Elementen bei der Annahme der Fütterung von 100 % eines Typs. Eine Supplementierung über Mineralfutterzusatz ist bei Maissilage als Nährstoffträger angebracht, neben Heu und Grassilage hauptsächlich wegen Na, Jod und Se. Die Zusammensetzung des Tränkewassers spielt trotz des hohen Wasserverbrauchs in der Elementbilanz nur eine geringe Rolle.

Autorenanschrift

Doz. Dr. Manfred Sager
 AGES Wien
 Spargelfeldstrasse 191
 1220 Wien
 E-Mail: manfred.sager@ages.at

aminotrace

Die innovative Entwicklung organisch gebundener
Spurenelemente



Optimaler Schutz für bedarfsgerechte Ernährung

Aminotrace setzt neue Maßstäbe für organisch gebundene Spurenelemente. Die neuen, speziellen Bis-Glycinate besitzen eine standardisierte Qualität, sind besonders geschützt, aber gleichzeitig hoch verdaulich.

Das Ergebnis:

- konstant bedarfsgerechte Ernährung
- hohe Futtereffizienz
- optimierte Leistungen in Milcherzeugung und Schweineproduktion

**Fragen Sie Ihren SCHAUMANN-Fachberater nach den neuen
Produktprogrammen mit Aminotrace.**



Titanium status in ruminants and omnivores

Winfried Arnhold¹, Manfred Anke², Steffen Göbel³ and Mathias Seifert⁴

¹ H. Wilhelm Schaumann GmbH Pinneberg, DE

² Friedrich Schiller University Jena, DE

³ Martin-Luther-University Halle, DE

⁴ Dortmund, DE

Introduction

Titanium is regarded as essential for animals and man. A titanium poor diet caused reduced feed intake and life weight gain in growing goats, enhanced the mortality in kids and reduced the titanium content of milk by 50 %. However, the requirement is met worldwide and titanium deficiency is not a practical problem. There is evidence that the titanium concentration of animal tissues is not homeostatically controlled. Mice, voles and screws from areas with a different titanium content of feed accumulated species specific different high amounts of titanium. Whereas a few results exist on the tissues concentration in organ tissues of monogastric animals no data are available in ruminants. Due to the species specificity of the titanium status, organ tissues of different wild ruminant species and omnivores were analysed and compared.

Methods

The investigated wild ruminants which were kept in captivity came from the Zoological Society of San Diego, and the Zoo Leipzig. Furthermore, organ tissues were taken from road killed mule deer from the Sacramento area. Wild living opossums and foxes were trapped at the San Diego Zoo and euthanized due to diseases screening. For the presentation of the results the various species of ruminants were classified as morphophysiological ruminant feeding types (Hofmann and Stewart 1972; Hofmann 2000) (Table 1).

Table 1: Species classified as morphophysiological Ruminant Feeding Types

Ruminant Feeding Types	Species
Concentrate selectors – fruit and dicot selectors (Conc.Sel.)	Duiker, Bongo, Sitatunga, Mule Deer
Intermediated mixed feeders (Int.Mixed Feed)	Markhor, Axis Deer, Impala,
Intermediated mixed feeders with tendency to feed like concentrate selectors (I.M.F./CS)	Hog Deer, Goitered Gazelle, Cuvier´s Gazelle, Roosevelt´s Gazelle, Soemmering´s Gazelle, Dama Gazelle, Nilgai, Nyala
Intermediated mixed feeders with tendency to feed like grass and roughage eaters (I.M.F./Gr.)	Ibex, Sika, Barasingha, Blackbuck, Thomson´s Gazelle
Grass and roughage eaters (Grass Rough.)	European Mouflon, Armenian Mouflon, Urial, Sable Antelope, Scimitar horned Oryx, Fringed eared Oryx, Gaur, Wisent
Grass and roughage eaters – dry region eaters (Grass R./D.)	Arabian Oryx, Gemsbok, Beisa Oryx

Tissues from liver, kidney, cerebrum, rib, skeletal muscle, heart, lung, aorta, spleen, and hair were obtained from clinically healthy animals. After dry ashing of samples the Ti-concentration was ana-

lyzed by optical emission spectroscopy with inductively coupled plasma at a wavelength of 323.452 nm with an underground compensation at the line of 323.412 nm. The detection limit of the instrument was 6 µg/l. The results were statistically assessed with the program SPSS for Windows (version 6.01, SPSS, Inc.).

Results

Effect of feeding type

Titanium is poorly absorbed in animals so that the concentrations in organ tissues are much lower than in the environment. The median Ti content of the liver varied between 46 and 128 µg / kg dry matter in adult ruminants (Table 2). Adult grass and roughage eaters tended to contain less Ti in the liver and significantly less Ti in the cerebrum than concentrate selectors and intermediated mixed feeders.

Grey foxes and opossums accumulated much higher median Ti concentrations in the cerebrum and in the liver to a lesser extend compared to the ruminant feeding types.

Furthermore, the median Ti concentration in the cerebrum of foxes and opossum is 5.6 and 8.3 times higher than in the liver, whereas the cerebrums of intermediated mixed feeders and roughage eaters contained only from 1.2 to 2.6 times more Ti than the livers of the corresponding feeding types.

Table 2: The titanium content of liver in ruminants classified as feeding types (µg / kg dry matter)

Species / Ruminant feeding types (n;n)	Liver			Cerebrum			p	Ratio ¹⁾
	median	min	max	median	min	max		
Grey fox (6 ;6)	458	34	2473	2584	103	5193	< 0.05	5,6
Opossum (14 ;10)	160	48	1873	1334	279	6196	< 0.01	8,3
Conc. Sel. (12;10)	128	17	453	630	73	1887	< 0.01	4,9
I.M.F./CS (43;40)	111	11	1854	302	29	3545	< 0.05	2,7
I.M.F. (20;19)	105	29	1854	183	34	934	n.s.	1,7
I.M.F./Gr. (53;50)	111	15	2197	134	23	842	n.s.	1,2
Grass Rough (27;27)	80	14	1478	150	27	1285	n.s.	1,9
Grass R./D. (10;8)	46	14	1872	118	16	316	n.s.	2,6
Fp	Species	< 0.01			< 0.001			
	Rum.feed.types	n.s.			< 0.001			
Ratio ²⁾	Species	10			22			
	Rum.feed.types	2,8			5,3			

¹⁾ Liver = 100%; Cerebrum = x%, ²⁾ Lowest value = 1, Highest value = x

Among the investigated organ tissues the spleen of the ruminants contained the lowest median Ti concentration, whereas grey foxes accumulated 32 times more Ti than I.M.F./Gr. (Table 3). The concentrate selectors and I.M.F./CS contained significantly more Ti in the pancreas than grass and roughage eaters and accumulated 65 times more in this organ tissue than in the spleen. Grass and roughage eaters contained between 8 and 9 times more Ti in the pancreas than in the spleen. Opossum only 2.7 times and Grey foxes 1.8 times.

Table 3: The titanium content of spleen in ruminants classified as feeding types ($\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter)

Ruminant feeding types (n;n)	Spleen			Pancreas			p	Ratio ¹⁾	
	median	min	max	median	min	max			
Grey fox (6 ;4)	893	313	3740	1646	1107	1947	n.s.	1,8	
Opossum (7;9)	164	132	1815	439	122	3047	n.s.	2,7	
Conc. Sel. (10;8)	36	15	2897	2343	209	5660	< 0.001	65	
I.M.F./CS (41;32)	30	13	1633	1217	150	4992	< 0.001	41	
I.M.F. (19;14)	74	10	1214	763	112	11448	< 0.001	10	
I.M.F./Gr. (52;30)	28	8,2	1100	752	60	9069	< 0.001	27	
Grass Rough (25;17)	90	12	738	773	198	6348	< 0.001	8,6	
Grass R./D. (8;4)	38	10	69	310	151	730	n.s.	8,2	
Fp	Species	< 0.05			< 0.05				
	Rum.feed.types	n.s.			< 0.05				
Ratio ²⁾	Species	32			7,6				
	Rum.feed.types	3,2			7,6				

¹⁾ Spleen = 100%; Pancreas = x%, 2) Lowest value = 1, Highest value = x

Table 4: The titanium content of kidney in ruminants classified as feeding types ($\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter)

Ruminant feeding types (n;n)	Adult			Neonatal			p	% ¹⁾
	median	min	max	median	min	max		
Conc. Sel. (11;5)	362	12	1169	612	17	3544	n.s.	333
I.M.F./CS (43;40)	177	9.1	1169	443	96	5073	< 0.001	250
I.M.F. (18;23)	219	90	566	929	41	3352	< 0.05	424
I.M.F./Gr. (53;61)	163	31	1046	269	25	2696	< 0.001	165
Grass Rough (28;31)	195	21	573	352	12	3924	< 0.05	181
Grass R./D. (10;8)	196	27	355	397	49	1811	< 0.05	206
Fp	n.s.			n.s.				
% ²⁾	222			345				

¹⁾ Adult = 100%; Neonatal = x%, 2) Lowest value = 100%, Highest value = x%

Effect of Age

The median Ti concentrations of kidneys in neonatal were significantly up to 4 times higher than in adults of the corresponding feeding types (Table 4). Significantly higher Ti concentrations were also found in cerebrum, spleen, pancreas, aorta, heart and skeletal muscle of neonatal ruminants compared to adults.

Contrary to other investigate organ tissues the median Ti concentration of the liver did not tended to a different accumulation in adult and neonatal ruminants, and furthermore, lungs and ribs of neonatal contained significantly less Ti than in adult ruminants (Table 5).

Effect of Sex

There is a tendency that with exception of heart female adult ruminants accumulate up 3 times more Ti in organ tissues than male ruminants, and the differences become significant in the case of kidney, rib, skeletal muscle, spleen and hair (Table 6).

However, in wild living adult opossums this tendency disappeared. Organ tissues like liver, cerebrum, skeletal muscle, spleen, and hair of female opossums contain only up to one fifth of the Ti concentration which were observed in male opossums.

Effect of Reproduction Status

It seems that the reproduction status takes also effect on Ti status. There is the tendency that lactating opossums contain less Ti in the organ tissues than non lactating (Table 7).

Effect of Habitat

The median Ti concentration of ribs of concentrate selectors kept in captivity was about 7 times significantly higher than in mule deer as a wild living concentrate selector (Table 8). However, the concentrate selectors of Northern California tended to store more Ti in liver and cerebrum than those of Southern California.

Intermediated mixed feeders and grass and roughage eaters of San Diego Zoo and WAP accumulated less Ti in the organ tissues than from the Zoo Leipzig.

Table 5: The titanium content of rib in ruminants classified as feeding types ($\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter)

Ruminant feeding types (n;n)	Adult			Neonatal			p	% ¹⁾
	median	min	max	median	min	max		
Conc. Sel. (11;5)	895	354	1536	480	180	724	< 0.01	54
I.M.F./CS (35;41)	744	80	1513	328	60	7216	< 0.001	44
I.M.F. (14;22)	1241	298	1823	311	85	4776	< 0.001	25
I.M.F./Gr. (37;57)	839	225	2323	434	70	2182	< 0.001	52
Grass Rough (24;25)	530	129	1567	317	73	1893	< 0.01	60
Grass R./D. (8;9)	485	264	705	308	147	867	n.s.	64
Fp	< 0.001			n.s.				
% ²⁾	256			154				

¹⁾ Adult = 100%; Neonatal = x%, ²⁾ Lowest value = 100%, Highest value = x%

Table 6: The titanium content of organ tissues in adult ruminants of one area ($\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter)

Organ tissue (n;n)	male			female			P	% ¹⁾
	median	min	max	median	min	max		
Liver (87;126)	100	8,4	1873	111	13	2473	n.s.	111
Kidney (85;122)	141	10	1169	219	9,1	1341	< 0.01	155
Cerebrum (73;120)	165	16	3047	209	23	6197	n.s.	127
Rib (66;103)	577	0,58	9991	877	59	40204	< 0.01	152
Skel.muscle(78;120)	137	32	1281	205	25	1157	< 0.05	150
Heart (73;115)	152	9,0	1266	140	24	2708	n.s.	92
Lung (76;110)	959	16	29875	1299	7,9	42785	n.s.	135
Aorta (65;100)	265	45	5469	299	13	2547	n.s.	113
Spleen (75;110)	27	8,2	2897	86	10	3740	< 0.01	319
Pancreas (58;87)	798	117	9069	812	60	11448	n.s.	102
Hair (28;57)	4205	646	21250	8639	256	73508	< 0.01	205

¹⁾ male = 100%, female = x%

Table 7: Effect of reproduction status on the titanium content of organ tissues in female adult opossum of one area ($\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter)

Organ tissue (n;n)	Non lactating			Lactating			p	% ¹⁾
	median	min	max	median	min	max		
Liver (4;4)	130	63	404	61	48	311	n.s.	47
Cerebrum (3;3)	1847	1364	6197	341	279	536	n.s.	18
Rib (4;3)	1561	1397	2431	1122	1029	1414	n.s.	72
Skel. muscle(3;4)	206	157	622	229	133	271	n.s.	111
Heart (4;3)	240	158	442	133	70	224	n.s.	55
Lung (3;4)	874	469	7087	696	298	2799	n.s.	80
Spleen (2;2)	172	142	202	141	132	151	n.s.	82
Pancreas (3;3)	547	413	3047	364	122	2094	n.s.	67
Hair (4;3)	1869	477	3041	1429	1036	2823	n.s.	76

¹⁾ non lactating = 100%, lactating = x%

Table 8: The Titanium content of organ tissues in concentrate selectors of different areas ($\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter)

Organ tissue (n;n)	San Diego Zoo and WAP			Sacramento Area (Mule deer)			p	% ¹⁾
	median	min	max	median	min	max		
Liver (14;10)	148	17	453	396	57	1544	n.s.	268
Kidney (13;10)	184	12	1169	205	36	537	n.s.	111
Cerebrum (12;10)	630	73	1887	1101	96	1872	n.s.	175
Rib (13;10)	895	354	1536	121	59	578	< 0.001	14

¹⁾ San Diego Zoo = 100%, Sacramento area = x %

Discussion

The Ti concentration in the organ tissues and hair showed a very high variability and confirms with results obtained in wild ruminants, hares, wild boars and humans (Anke and Seifert 2004; Nielsen 1987). Liver of wild boars from Central Europe contained 100 – 125 μg Ti/ kg dry matter, the mean Ti concentrations in kidneys varied between 100 – 220 μg and were in the same range like the Ti concentrations of liver and kidney in roe deer, red deer, mouflons and common hare from Central Germany and from various wild ruminants from Southern California. The Ti concentration in organ tissues like liver, kidney, cerebrum and spleen of grey foxes and opossums was up to 32 times higher than in ruminants. However, lower Cu and Zn concentration were obtained in the liver of grey foxes and opossums compared to ruminants (Arnhold et al. 2002), whereas the Mn concentration of liver was in the same range among the animal species. Nevertheless, the habitat seems to influence the Ti status. Adult concentrate selectors of Northern California accumulated 3 times more Ti in the liver than in Southern California, and the organ tissues of intermediated mixed feeders from Central Europe (Zoo Leipzig) contained up 5.7 times more Ti than the corresponding feeding type of Southern California (Arnhold et al 2006). Liver and kidney of deer and pork from other areas contained considerable more Ti than in the above mentioned animals (Schroeder et al. 1963). Furthermore, the feeding types took effect on the Ti content of organ tissues. As a rule grass and roughage eaters stored less Ti in different tissues than the other feeding types. This was true for adults ruminants as well as for neonatal but to a lower extent. Except ribs and lungs neonatal ruminants accumulated significantly more Ti in the organ tissues than adults.

Acknowledgements

The work was supported by the German Academic Exchange Service. We gratefully acknowledge the samples provided by the Department of Pathology of Zoological Society of San Diego, Veterinary Service station Sacramento, and the Leipzig Zoo.

References

- Anke, M. 2000: Ultratrace element intake depending on the geological origin of the habitat, time, sex and form of diet. In: Seifert, M. et al (Eds) Mengen- und Spurenelemente, Author and Element Index 1981 – 2000. p. 11 - 19
- Anke, M., Seifert, M. 2004: Titanium. In: Merian, E. et al (Eds) Elements and Their Compounds in the Environment. Volume 2: Metals and Their Compounds. Wiley-VCH Verlag gmbH & co. KGaA, Weinheim, Germany p. 1125 - 1140
- Arnhold, W., M. Anke, S. Göbel 2002: The copper, zinc, and manganese status in opossum and gray fox. *Z. Jagdwiss.* 48, Suppl. 87 - 98
- Arnhold, W., M. Anke, M. Seifert, S. Göbel 2006: Titanium status in ruminants. *Mengen- und Spurenelemente.* 23. Jahrestagung.
- Hofmann, R.R. 2000: The structure of digestive systems in the feeding of mammals: a comparative approach. In: Nijboer, J. et al. (Eds): *Zoo Animal Nutrition.* Filander Verlag Fürth, Germany. p. 163 – 181
- Hofmann, R.R., Stewart, D.R.M. 1972: Grazer or browser: a classification based on the stomach structure and feeding habits of East African ruminants. *Mammalia* 66: 44 – 50
- Nielsen, F.H. 1987: Other elements: Titanium In: Mertz, W. (Ed.): *Trace Elements in Human and Animal Nutrition.* Academic Press, Inc. San Diego, CA. Vol. 2. p. 446 - 447
- Schroeder, H.A., Balassa, J.J., Tipton, I. 1963: Abnormal trace metals in man: Titanium. *J. Chronical Disease* 16, 55 - 69

Corresponding author

Winfried Arnhold
H. Wilhelm Schaumann GmbH
An der Mühlenau 4, D-25421 Pinneberg
E-mail: winfried.arnhold@schaumann.de

Untersuchungen zu Effekten einer erhöhten Biotin-Gabe in Kombination mit unterschiedlicher Zink-Zulage (ZnO vs. Zn-Met 1:2 Komplex) auf die Entwicklung und Schweregrad der Fußballendermatitis von Mastputen beim Einsatz diverser Einstreuarten

Dmytro Radko¹, Armin Müller¹, Amr-Ab Al-Wahab² und Josef Kamphues²

¹ Lohmann Animal Health GmbH, Cuxhaven, DE

² Institut für Tierernährung, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, DE

Einleitung

Die Fußballendermatitis (foot pad dermatitis, FPD) ist eine in der modernen Geflügelhaltung weit verbreitete Erkrankung die mit einer nekrotischen Veränderung der Fußballenoberfläche, die in schweren Fällen mit eingeschränkter Bewegungsaktivität und Leistungsminderung einhergeht (Berg, 2004; Martland 1984).

Bei Mastputen erreicht die Prävalenz bereits in der 16 Lebenswoche 97,9% bei den Truthähnen bzw. 96,4% bei Truthennen und zum Zeitpunkt der Schlachtung bis zu 100 % (Hafez et al., 2004; Krautwald-Junghanns et al 2011). Außer großer wirtschaftlicher Bedeutung wird FPD vor allem in europäischen Ländern als ein Kriterium zur Beurteilung des Wohlbefindens und Tierschutzstandards verwendet und spielt in den Produktionsaudits eine entsprechende Rolle (Berg and Algers 2004). Einstreufeuchte wird als Hauptfaktor bei der Entstehung der FPD genannt (Allain et al., 2009; Martland et al., 1985; Mayne 2005). Die Einstreufeuchte wird wiederum auf vielfältige Weise durch die Fütterung beeinflusst. Die Zusammensetzung des Futters und insbesondere die Ergänzung mit Vitaminen und Spurenelementen wie z.B. mit Biotin, Zink oder schwefelhaltigen Aminosäuren spielt bei der Prophylaxe von FPD eine bedeutende Rolle (Chavez and Kratzer 1974; Jensen and Martinson; 1969; Mayne et al 2007). Auch die Qualität bzw. Eigenschaften der Einstreu wie Struktur, Partikelgröße, Wasseraufnahme und das Wasserabgabevermögen ist ein wesentlicher Faktor in der komplexen FPD Pathogenese (Bilgili et al., 2009; Grimes et al., 2002). Vor diesem Hintergrund sollte in dem vorliegenden Feldversuch mit Mastputen untersucht werden, inwieweit sich die zusätzliche bzw. bedarfsüberschreitende Dosierung von Biotin und Zink im Form von Zink-Methionin 1:2 Komplex unter dem Einfluss verschiedener Einstreuarten (Hobelspäne vs. Strohgranulat) auf die Entwicklung der FPD Problematik und auf die Leistungsparameter der Tiere auswirkt.

Material und Methoden

Der Versuch wurde auf dem Lehr- und Forschungsgut Ruthe durchgeführt. Der Putenmaststall bestand aus zwei Stallhälften (Kontroll-/Versuchsfutter) mit jeweils separater Futtermittellieferung. In jeder Stallhälfte wurde – zur zusätzlichen Prüfung der unterschiedlichen Einstreu eine Unterteilung der Fläche und Tiere vorgenommen (Abtrennung in jeweils zwei Abteile über einen Drahtzaun).

Im Rahmen der Studie wurden insgesamt 2900 Puteneintagsküken (BIG 6) auf vier Gruppen aufgeteilt (725/Abteil). Jedes Abteil hatte Fläche von ca. 236 m².

Der planbefestigte Boden war mit Hobelspänen (7,79kg/m²) bzw. Strohgranulat (8kg/m²) eingestreut. Bis zum 37. Lebenstag (LT) wurde kein Einstreu neu hinzugefügt, d.h. es wurde zunächst auf jegliches Nachstreuen verzichtet.

Jeder Gruppe erhielt ein Alleinfutter (AF) ad libitum, das sich nur in den Zusätzen von Zink (hier: Gesamtgehalt) und Biotin (hier: Zulage) unterschied.

- Gruppe 1: Zink 150mg/kg AF als Zink-Oxid + Biotin 300µg/kg AF (Hobelspäne)
- Gruppe 2: Zink 150mg/kg AF als Zink-Oxid + Biotin 300µg/kg AF (Strohgranulat)
- Gruppe 3: Zink 150mg/kg AF als Zink-Methionin + Biotin 2000µg/kg AF (Hobelspäne)
- Gruppe 4: Zink 150mg/kg AF als Zink-Methionin + Biotin 2000µg/kg AF (Strohgranulat)

Während des Versuchs wurden wöchentlich Parameter wie Trockensubstanz (T) in der Einstreu (%), Höhe der Einstreu (cm) und Temperatur auf Einstreu (°C) untersucht. Nach 5 und 11 Wochen erfolgte die makroskopische Untersuchung der Fußballen bei 160 Tieren bzw. 80 Tiere pro Abteil und zum Zeitpunkt der Schlachtung 300 Füßen (Ständer) pro Gruppe bzw. 150 Füßen pro Abteil (Scores nach Mayne et al. 2007). Der Nährstoffgehalt aller eingesetzten Alleinfuttermittel (P1-P6) wurde nach Weender Analyse bestimmt.

Ergebnisse

Die Mischfutterzusammensetzung orientierte sich für die verschiedenen Mastphasen an praxisübliche Werte und war in der Kontroll- und Versuchsgruppe nahezu identisch (Tabelle 1). Nur die zu prüfenden Inhaltsstoffe unterschieden sich: im Kontrollfutter wurden bei der Verwendung von ZnO als Zn-Quelle etwas niedrigere Zn-Werte (ØP1-P6 133,6 mg/kg TS) während im Versuchsfutter mit durchschnittlich 176,5 mg/kg TS etwas höhere Werte erreicht wurden. Die Biotin-Gehalte unterschieden sich wie geplant ganz erheblich: während in der Kontrollgruppe die analysierten Werte zwischen 485 und 1240 µg/kg AF variierten, war im Versuchsfutter ein höheres Niveau zu verzeichnen (1355-2790 µg/kg AF). Bezüglich der Biotingehalte für die Phase 2 stehen noch Nachuntersuchungen aus, deren Ergebnisse nachgereicht werden.

Bei der Bestimmung der Trockensubstanz der Einstreu konnten ab 35. Lebenstag die sogenannten „kritische“ für die Entstehung der FPD prädisponierende Feuchte-Gehalte (d.h. 35% Feuchtigkeit und mehr) ermittelt werden. In dem am Ende der Mast (LT 135) untersuchten Exkrement-Einstreugemisch konnten zwischen den Gruppen unabhängig vom Futter und der Art der Einstreu keine Unterschiede festgestellt werden. So variierte der TS-Gehalt in der Kontrollgruppe von 48,6 bis 49,2% und in der Versuchsgruppe zwischen 49,6 bis 49,9%. Auch bei der Messung der Temperatur (°C) auf Einstreu konnten zu keinem Zeitpunkt Unterschiede festgestellt werden. So variierte die Temperatur in den Abteilen mit Hobelspänen zwischen 30,0 ± 0,66 am 7.LT und 21,3 ± 2,25 °C am 70. LT, in den Abteilen wo Strohgranulat zum Einsatz kam entsprechend zwischen 30,7 ± 0,54 und 22,9 ± 0,49°C. Aus praktischer Sicht interessant sind die Ergebnisse der Einstreuhöhe: bei gleicher aufgegebener Masse sind die Werte bei den Hobelspänen immer deutlich höher (8,15 vs. 6,31 bzw. 7,74 vs. 5,94).

Hinsichtlich der Fußballengesundheit und in Abhängigkeit von der Nährstoffergänzung konnten folgende Ergebnisse ermittelt werden (Abbildung 1).

Am 39. Lebenstag waren die Veränderungen an den Fußballen sehr gering. Bei üblicher ZnO- und Biotin-Ergänzung ergaben sich mittlere Scores von 1,70a ± 0,78 (n=160), während die Zn-Met- und hohe Biotin-Ergänzung zu Score-Werten im Mittel von 1,52a ± 0,71 führte, was einer Minderung des Scores um ca.10% entsprach. Bei der zweiten FPD Beurteilung am 81. Lebenstag lagen die Mittelwerte bei Tieren die das Kontrollfutter erhalten hatten bei 3,77 ± 0,65 und in der Gruppe deren Futter mit Zn-Met und hohem Biotin-Zusatz ergänzt wurde bei 3,93 ± 0,52. Schwere Veränderungen (Scores 6+7) konnten zu diesem Zeitpunkt noch nicht festgestellt werden. Bei der Evaluierung der Fußballengesundheit am Zeitpunkt der Schlachtung (142. LT) konnten zwei Hauptbefunde herausgestellt wer-

den. Am Schlachthof zeigten sich nach Einsatz des Kontrollfutters mittlere Scores von $5,63 \pm 1,23$ während bei hoher Biotin-Zufuhr und Einsatz von Zn-Met niedrigere durchschnittliche Werte von $5,06 \pm 1,24$ zu beobachten waren.

Tabelle 1: Analyseergebnisse (Mittelwerte P1-P6) der in der Kontroll- und Versuchsgruppe (mit den Untergruppen 1 und 2) verwendeten Alleinfuttermittel (Angaben in der TS)¹

Gruppe		Kontrolle*	Versuch*
Parameter			
TS	g/kg uS	890 ± 8,42	893,0 ± 5,22
XP	g/kg	245 ± 46,0	243,0 ± 41,4
XL	g/kg	65,6 ± 19,1	55,4 ± 14,9
XF	g/kg	27,8 ± 2,69	23,9 ± 2,76
NfE	g/kg	490 ± 36,1	509,3 ± 44,8
Stärke	g/kg	424 ± 62,1	427,2 ± 75,8
ME	g/kg	13,8 ± 0,85	13,3 ± 1,16
Ca	g/kg	12,4 ± 3,87	12,5 ± 3,15
P	g/kg	8,20 ± 1,89	8,62 ± 2,69
Na	g/kg	1,70 ± 0,53	1,58 ± 0,47
Cu	g/kg	20,5 ± 5,45	20,0 ± 3,76
Zn	g/kg	134 ± 37,1	176,5 ± 15,5
Lysin	g/kg	14,5 ± 3,58	15,1 ± 4,75
Met	g/kg	4,78 ± 1,83	4,56 ± 1,38
Cys	g/kg	3,94 ± 0,60	3,71 ± 0,47
Biotin	µg/kg	806 ± 316	2090 ± 525

* n=6

Sehr interessant sind die Veränderungen bei den Frequenzen hochgradiger Fußballenveränderungen: nach Einsatz des Kontrollfutters waren bei 57,7% der Fußballen hochgradige Veränderungen zu sehen, während derartige Läsionen nach Einsatz des Versuchsfutters deutlich weniger frequent auftraten (37,3%). Zur Schlachtung wurden mittlere Körpermassen von 20,7 kg in der Kontroll- und 21,6 kg in der Versuchsgruppe ermittelt werden.

Die Verlustrate lag in der Kontrollgruppe bei 13,0% (188 Tiere) in der Gruppe die das Versuchsfutter bekam bei 8,69% (126 Tiere). Die forcierte Biotinergänzung hatte auch entsprechende Veränderungen im Biotin-Gehalt des Blutes zu Folge. So stieg der Wert am Zeitpunkt der Schlachtung im Vergleich zu Kontrollgruppe um den Faktor 2,5 signifikant an. Der Mittelwert (n=6) betrug in der Kontrollgruppe $426^b \pm 97,9$ ng/dl und in der Versuchsgruppe entsprechend $1071^a \pm 67,2$ ng/dl.

Diskussion

In der vorliegenden Studie führte der Zusatz von Zink in Form von Zink-Methionin 1:2 Komplex zusammen mit hoher Biotin-Gabe zum Putenfutter (P1-P6) zu einer signifikanten Minderung der Schwere der Fußballendermatitis zum Zeitpunkt der Schlachtung. So konnten die positiven Ergebnisse aus den Versuchen mit Masthähnchen auch unter Feldbedingungen bei der Pute bestätigt werden (Kamphues 2012)

In den Versuchen von Youssef et al. (2011) wurde die Frage der Zinkergänzung als Maßnahme gegen FPD bei normaler und sehr feuchter Einstreu bei den Mastputen bereits geprüft. So minderte die Zinkergänzung als Zn-Aminosäuren-Chelate in Kombination mit hohem (2000 µg/kg AF) Biotin-Gehalt auf insgesamt 145 mg Zn/kg AF deutlich den Schweregrad der FPD (Scores von 2,0 auf 0,9 am 42. LT), diese Wirkung wurde im Gegensatz zu dem vorliegenden Befund bei hohem bzw. praxisrelevanten

Feuchtegehalt in der Einstreu nicht nachweisbar. Bilgili (2009) konnte jedoch die positiven Effekte aus der vorliegenden Studie über einer Ergänzung mit Zink aus organischen Quellen auf die Fußballengesundheit unter dem Einfluss einer hohen Besatzdichte bestätigen. Manangi et al (2010) zeigte in einem breit angelegten Feldversuch mit Broilern, dass organische Zinkquellen im Vergleich zu den anorganischen eine deutlich höhere Verdaulichkeit aufweisen und entsprechend besser bioverfügbar sind was den positiven Effekt auf FPD untermauert.

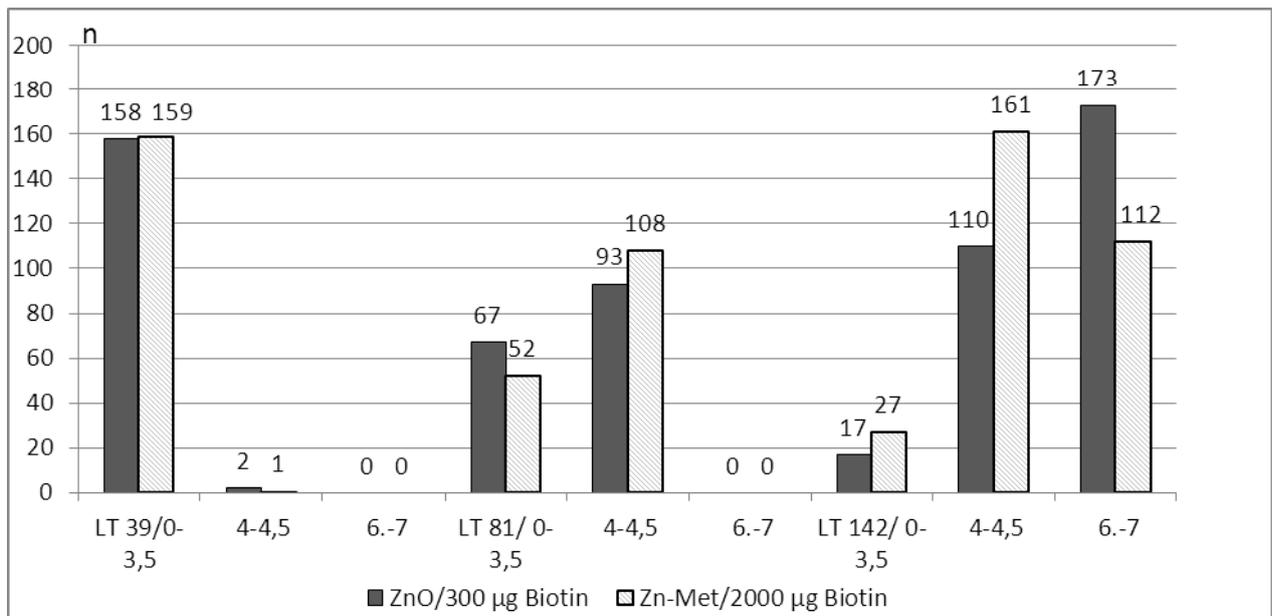


Abbildung 1: Einfluss der unterschiedlichen Behandlung (Zn-/Biotin-Zusatz) auf die Fußballengesundheit bei Mastputen (Scores nach Mayne et al., 2007; Vorkommen von gering-, mittel- und hochgradigen Veränderungen) zum Zeitpunkt der Schlachtung (LT.142)

Eine besondere Erklärung dieser günstigen Effekte kann auch die Rolle der Methioninergänzung bei den Mastputen liefern. So führte der Einsatz einer Mischfutterrezeptur die auf Sojaschrott und hohen Maisanteilen basierte und unzureichend mit Methionin ergänzt wurde zu einer Verschlechterung der FPD Fußballengesundheit bei den Jungputen. DL-Methionin erwies sich dagegen als eindeutig günstigere Variante im Vergleich zu den Methionin-Hydroxy-Analoga in Bezug auf FPD Prophylaxe (Chavez und Kratzer (1974).

Durch Veränderungen in der Mischfutterrezeptur kann man die Fußballengesundheit in einer Mastputenherde positiv beeinflussen. Diese Zusatzstoffe können insbesondere dann verwendet werden wenn es bestandsspezifisch eine FPD Problematik und entsprechender Bedarf an flankierenden Maßnahmen gibt.

Literatur

- Berg, C., and Algers. B. (2004): The effect of floor heating and feed protein level on the incidence of foot pad dermatitis in turkey poults. Page 359 in EAAP-55th Annual Meeting L4. 101, Bled, Slovenia,
- Bilgili S. (2009): Factors contributing to foot pad dermatitis in broilers. Watt Poultry USA, 26-27.
- Chavez E., and Kratzer F.H. (1972): Prevention of foot pad dermatitis in poults with methionine. Poul. Sci. 51(5), 1545-1548
- Kamphues J., Abd El-Wahab, Radko.D und Kölln.M. (2012). Besondere Futterzusatzstoffe für gesunde Fußballen. DGS-Magazin. 44: 32-39

Grimes J. L., Smith J. and Williams C. M. (2002): Some alternative litter materials used for growing broilers and turkeys. *World's Poult. Sci. J.* 58:515–526.

Hafez, H.M., Wäse K, Haase S, Hoffmann T, Simon O, Bergmann V. (2004): Leg disorders in various lines of commercial turkeys with special attention to pododermatitis. In: H.M. Hafez (ed.). *Proceedings of the German Veterinary Medical Society, Institute of Poultry Diseases*. Free University, Berlin, Germany, pp. 11-18.

Jensen, L., Martinson S. R. and Schumaler. G. (1970): A foot pad dermatitis in turkey poult associated with soybean meal. *Poult. Sci.* 49: 76-82.

Krautwald-Junghanns, M.E., Ellerich R, Mitterer-Istyagin H, Ludewig M, Fehlhaber K, Schuster E, Berk J, Petermann S, Bartels T. (2001) Examinations on the prevalence of footpad lesions and breast skin lesions in British United Turkeys Big 6 fattening turkeys in Germany. Part I: prevalence of footpad lesions. *Poult Sci.* 2011 Mar;90(3):555-60

Manangi., M. K., Hampton T., Fisher P, Richards J. D, Vazquez-Anon M., and Christensen K. D. (2010): Impact of feeding lower levels of chelated minerals vs. industry levels of inorganic trace minerals on broiler performance, yield, footpad health, and litter minerals concentration. *Proc. 2010 International Poultry Scientific Forum Atlanta, G*

Martland M.F. (1984): Wet litter as a cause of plantar pododermatitis, leading to foot ulceration and lameness in fattening turkeys. *Avian Pathology* 13, 241-252

Mayne R.K. (2005): A review of the etiology and possible causative factors of foot pad dermatitis in growing turkeys and broilers. *World's Poultry Science Journal* 61, 256-267.

Mayne, R.K., Else R.W., and Hocking. P.M. (2007): High dietary concentration of biotin did not prevent foot pad dermatitis in growing turkeys and external scores were poor indicators of histopathological lesions. *Britisch.Poult.Sci.* 48, 292-298

Youseff, I.M.I., Beineke A, Rohn K., and Kamphues J. (2012): Influences of increased levels of biotin, zinc or mannanoligosaccharides in the diet on foot pad dermatitis in growing turkeys housed on dry and wet litter. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 96(5):747-761.

Autorenanschrift

Dr. Dmytro Radko
Lohmann Animal Health GmbH
R&D Feed Additives
Heinz-Lohmann Str.4; D-27472 Cuxhaven
E-Mail: dmytro.radko@lohm.de

Prof. Dr. Josef Kamphues
Institut für Tierernährung
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15; D-30161 Hannover
E-Mail: josef.kamphues@tiho-hannover.de

Der Einfluss von Vitamin-B-Zulagen auf verschiedene Leistungsparameter beim Mastschwein

Winfried Arnhold¹, Gerhardt Richter², Simone Müller², Werner Schad³, Brigitte Neues⁴ und Steffen Göbel⁵

¹ H.Wilhem Schaumann GmbH Pinneberg, DE

² Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft Jena, DE

³ Agrar- und Tierzuchtgenossenschaft „Grabfeld“ e.G. Behrungen, DE

⁴ Schweinekontroll- und beratungsring Thüringen, DE

⁵ Martin Luther Universität Halle, DE

Einleitung

Ein höheres genetisches Wachstumspotential und ein verbesserter Gesundheitsstatus ermöglichen höhere Zunahmen bei Mastschweinen. Dadurch steigt der Tagesbedarf an Nährstoffen und Energie. Einige Nahrungsbestandteile, die über den Bedarf und die üblichen Sicherungszusätze hinaus verabreicht werden, können zu höheren Leistungen und besserem Gesundheitsstatus führen.

Leistungssteigerungen traten bei Vitamingaben auf, die die Empfehlungen der GfE und des NRC übertrafen (COEHLO 2001). Hohe Vitamin-B-Konzentrationen im Futter verbesserten bei Schweinen den Magerfleischanteil, den Gesundheitsstatus und die Lebendmassezunahmen (STAHLY und COOK 1996, LUTZ und STAHLY 1998, COEHLO 2001, LUTZ et al. 1999, 2002, WEIß und QUANZ 2003). Es wird angenommen, dass Schweine mit hohem Proteinbildungsvermögen auch einen höheren Bedarf an B-Vitaminen aufweisen. Jedoch wurden diese Befunde hauptsächlich an Ferkeln gewonnen (CLINE and HILL 2002).

Ziel der Untersuchungen war, den Einfluss erhöhter Vitamin B- Mengen im Futter auf die Mastleistung von Schweinen an der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft Jena (TLL) und unter Praxisbedingungen zu überprüfen.

Material und Methoden

Fütterungsversuche

In der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft Jena (TLL) wurden zwei Versuche mit 16 männlich kastrierten Mastschweinen je Gruppe durchgeführt. Die Einstellung der Tiere in den Maststall erfolgte bei Einzelhaltung im Alter von 10 Wochen mit einer mittleren Körpermasse von 27,2 kg (Versuch 1) bzw. 28,2 kg (Versuch 2). Die Schweine konnten das schrotförmige Futter ad libitum aufnehmen. Die Futterreste wurden am Ende der Vormast und der Endmast zurückgewogen. Die Tiere erhielten eine Vormast- und Endmastmischung aus Getreide und Getreideprodukten, Soja- und Rapsextraktionschrot, Erbsen, Sojaöl und Mineralstoffmischungen ohne B-Vitamine. Die analysierten Nährstoffgehalte der einzelnen Fütterungsgruppen stimmten relativ gut überein (Tabelle 1).

Tabelle 1: Inhaltsstoffe der verwendeten Futtermischungen pro kg Futter

Parameter	Versuch 1		Versuch 2	
	Vormast	Endmast	Vormast	Endmast
Umsetzbare Energie, MJ / kg	13,7	13,3	13,7	13,1
Rohprotein, %	19,4	16,0	17,8	16,1
Lysin, %	1,18	0,96	1,11	0,94
Methionin/Cystin, %	0,70	0,60	0,65	0,56
ME: Lysin; 1:	0,86	0,72	0,81	0,72

Die Rationen differierten zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe lediglich in unterschiedlich hohen Zusätzen an B-Vitaminen (Tabelle 2). Die Zulagen entsprachen in den Kontrollgruppen der Vitamin B-Supplementierung der Mastleistungsprüfung des Landes Thüringen und in den Zulagegruppen etwa der achtfachen B-Vitaminisierung der zum Versuchszeitpunkt gültigen amerikanischen NRC-Normen (NRC 1998).

Tabelle 2: Vitamin B-Ergänzung des Mischfutters (mg / kg Mischfutter)

Vitamin	Kontrollgruppe	Gruppe mit erhöhter Vitamin B-Zulage
B1	-	3,0
B2	1,5	15,5
B6	-	2,0
B12	0,010	0,072
Nikotinsäure	18	94
Pantothensäure	3,0	56
Folsäure	-	2,0
Biotin	-	0,050

Praxistests

Drei Fütterungsversuche (A; B und C) wurden 2006, 2007 und 2008 in der Schweinemastanlage der Agrar- und Tierzuchtgenossenschaft „Grabfeld“ e.G. Behrungen, Thüringen durchgeführt. Diese besteht aus 7 Mastabteilen mit durchschnittlich 300 Mastplätzen.

In die Versuchsgruppen wurden insgesamt 949 Mastschweine (Pi x DE/DL) und in die Kontrollgruppen 718 Tiere zu je ca. 52 bzw. 25 Stück eingestallt. Alle Mastschweine wurden an diesen Tagen bei der Einstallung gruppenweise gewogen und nach Geschlechtern getrennt aufgestellt. Die Einstallungsgewichte betragen in der Versuchsgruppe im Mittel 34,2 kg/Tier und in der Kontrollgruppe im Mittel 33,0 kg/Tier.

Die Schlachtung erfolgte in zwei Schlachthöfen in Thüringen. Am Schlachtband erfolgte die Zuordnung der vor der Verladung gekennzeichneten Tiere zu den einzelnen Gruppen. Anhand der vorliegenden Schlachtergebnisse wurde die Auswertung nach Zuwachs, Klassifizierung, Haltungsdauer, nach Futtertagen für jedes Ventil, getrennt nach Versuchsgruppe und Kontrollgruppe sowie nach Geschlecht vorgenommen. Der Futterverbrauch wurde anhand der im Produktionsprozess erfassten Daten ausgewertet. Bei der Ermittlung der Futtertage wurden der Einstalltag und der Schlachttag nicht mitgerechnet.

Die Fütterung erfolgte über eine Flüssigfütterungsanlage mit Kurztrug und Sensor in zwei Abschnitten (Einstellung bis 65 kg Lebendgewicht und 65 kg bis zur Ausstallung im Mittel mit 115,9 kg/Tier in beiden Gruppen). Bis zu 10 Portionen je Tag konnten von den Schweinen abgerufen werden. Das Tier-Fressplatzverhältnis betrug 4:1. Die Fütterung erfolgte bei den Sauen ad libitum und bei den männlichen Kastraten 2006 und 2007 restriktiv und 2008 ad libitum.

Die zwei Gruppen erhielten in der Vor- und Endmast die im Betrieb übliche Futtermischung aus Gerste, Weizen, Triticale und Eiweißergänzer. Die mittleren Gehalte der Inhaltsstoffe der Rationen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Inhaltsstoffe der verwendeten Futtermischungen pro kg Futter

	Vormast	Endmast
Umsetzbare Energie, MJ / kg	13,1	12,8
Rohprotein, %	17,5	16,5
Lysin, %	1,1	1,0
Methionin/Cystin, %	0,66	0,61
ME: Lysin; 1:	0,84	0,78

Für die Vor- und die Endmast wurde jeweils ein auf den Mastabschnitt abgestimmter Ergnzer verwendet, der in Kontroll- und Versuchsgruppe unterschiedlich hohe Konzentrationen an B-Vitaminen enthält. In den Kontrollgruppen entsprachen die Vitamin B-Konzentrationen den in der Praxis üblichen Werten. Die Schweine in den Zulagegruppen erhielten in modifizierter Form die Vitamin B-Konzentrationen, die in den Versuchen in Jena verabreicht wurden.

Ergebnisse

Fütterungsversuche

Die Mastleistungen und die erfassten Schlachtkrpermerkmale waren bei hohem Leistungsniveau nicht signifikant von der Vitamin B-Versorgung abhängig (Tabelle 4). Die höhere Vitamin B-Versorgung führte im Mittel der beiden Versuche zu keiner Veränderung in der Futteraufnahme, zu 1 % erhohter Krpermassezunahme bei 1 bzw. 2 % verbessertem Futteraufwand. Der Magerfleischanteil verbesserte in der Versuchsgruppe in beiden Versuchen um 1,2 bzw. 0,7 %-Punkte.

Tabelle 4: Einfluss einer Vitamin B-Zulage auf die mittlere Mastleistung und den Magerfleischanteil bei Mastschweinen

Mastschweine (16;16)	Kontrolle		Zulage		P	% ¹⁾
	s	x	x	s		
Futteraufnahme (kg / Tier und Tag)						
Versuch 1	0,94	2,82	2,79	0,93	n.n.	99
Versuch 2	0,97	2,92	2,91	0,97	n.n.	100
Masttagszunahme (g / Tier und Tag)						
Versuch 1	69	945	959	64	n.n.	101
Versuch 2	64	980	991	98	n.n.	101
Futteraufwand (kg / kg Masttagszunahme)						
Versuch 1	0,99	2,98	2,91	0,97	n.n.	98
Versuch 2	0,99	2,97	2,93	0,98	n.n.	99
Magerfleischanteil (%)						
Versuch 1	2,1	55,0	56,2	2,7	n.n.	102
Versuch 2	1,7	54,0	54,7	3,2	n.n.	101

¹⁾ Kontrolle = 100 %, Zulage = x %

Praxistests

Auch in den Praxistests beeinflusste der erhöhte Gehalt an B-Vitaminen im Schweinemastfutter den Futtermittelverzehr nicht. Die mittlere tägliche Lebendmassezunahme beider Geschlechter lag in der Versuchsgruppe 10 bis 26 g höher als in der Kontrollgruppe (Tabelle 5).

Tabelle 5: Einfluss einer Vitamin B-Zulage auf die Lebendmassezunahme von Mastschweinen (g / Tier und Tag)

Mastschweine (n;n)	Kontrolle		Zulage		P	% ¹⁾
	s	x	x	s		
A (224;251)	229	722	732	232	n.n.	101
B (253;462)	224	707	733	232	< 0,05	104
C (242;238)	238	751	775	246	< 0,001	106

¹⁾ Kontrolle = 100 %, Zulage = x %

Wurden beide Geschlechter getrennt ausgewertet, ergab sich bei den Börgen eine deutlichere Verbesserung der Lebendmassezunahme als in der Kontrollgruppe sowohl bei restriktiver als auch bei ad libitum Fütterung (Tabelle 6), während die Vitamin B-Zulagen bei den Sauen keine signifikante Veränderung bewirkten.

Tabelle 6: Einfluss einer Vitamin B-Zulage auf die Lebendmassezunahme von Börgen (g / Tier und Tag)

Fütterung (n;n)	Kontrolle		Zulage		P	%
	S	x	X	S		
Restriktiv (201; 333)	218	668	762	242	< 0,001	111
Ad libitum (118;121)	244	768	822	261	< 0,001	107
P	< 0,001		< 0,001			
%	112		108			

Kontrolle = 100 %; Zulage = x %; restriktiv = 100 %; ad libitum = x %

Die Vitamin B-Zulage führte im Mittel beider Geschlechter zu statistisch gesichert 0,6 bzw. 0,9 höheren Prozentpunkten im Magerfleischanteil im Vergleich zu den Kontrollgruppen (Tabelle 7).

Tabelle 7: Einfluss einer Vitamin B-Zulage auf den Magerfleischanteil Mastschweinen (%)

Mastschweine (n;n)		Kontrolle		Zulage		P	Differenz
		S	x	x	s		
A	gesamt (227;244)	3,2	57,1	58,0	3,1	< 0,001	+ 0,9
	Sauen (114;123)	2,8	58,5	59,3	2,6	< 0,05	+ 0,8
C	gesamt (241;236)	2,8	57,5	58,1	2,9	< 0,05	+ 0,6
	Sauen (123;117)	2,5	58,7	59,2	2,3	n.n.	+ 0,5

Auch mit ad libitum Fütterung der Börgen waren immerhin noch 0,8 Prozentpunkten mehr Magerfleischanteil bei Vitamin B-Zulage trotz der höheren Lebendmassezunahme erzielt worden (Tabelle 8). Die ad libitum Fütterung verschlechterte den Magerfleischanteil im Vergleich zur restriktiven Fütterung nicht. Der höhere Magerfleischanteil der Mastschweine in den mit Vitamin B supplementierten Gruppen führte auch zu einer besseren Einstufung in die bis 2011 in Deutschland gültigen Schlachtwertklassen.

Tabelle 8: Einfluss einer Vitamin B-Zulage auf den Magerfleischanteil von Börgen (%)

Fütterung (n;n)	Kontrolle		Zulage		P	Differenz
	S	x	x	s		
Restriktiv (113; 121)	2,8	55,6	56,7	3,0	< 0,05	+ 1,1
Ad libitum (118;121)	3,0	56,2	57,0	3,0	< 0,05	+ 0,8
P	n.n.		n.n.			
Differenz	+ 0,6		+ 0,3			

Kontrolle = 1; Zulage = x; restriktiv = 1; ad libitum = x

Diskussion

Die Zulage von Vitaminen des B-Komplexes auf die ca. 8-fache Menge der NRC-Normen führte in zwei Fütterungsversuchen im Trend zu einer höheren Masttagszunahme und zu einem verbesserten Futteraufwand. Dass die Ergebnisse nicht statistisch gesichert werden konnten, lag zum größten Teil an der relativ geringen Zahl von nur 16 Tieren pro Gruppe in den Versuchen.

Unter Praxisbedingungen (3 Versuche in einem Betrieb) wurde durch die Vitamin B-Zulage ein verbessertes Ergebnis in der Schweinemast erzielt. Im Mittel nahmen die mit Vitamin B supplementierten Mastschweine 10 - 26 g mehr pro Tag. Im Mittel beider Geschlechter wiesen die Tiere der Zulagegruppe einen signifikanten um 0,9 Prozentpunkte höheren Magerfleischanteil und somit eine bessere Einstufung in die bis 2011 gültige Handelsklasse E auf als die Kontrolltiere. Diese Ergebnisse bestätigen in der Tendenz die unter Versuchsbedingungen erzielten Resultate der Landesuntersuchungsanstalten in Sachsen und Hessen (ALERT et al. 2005, Weiß und Quanz 2003). Die unterschiedliche Reaktion der Geschlechter auf die Vitamin B-Zulage in diesen Praxisversuchen bedarf der Bestätigung in weiteren Versuchen und würde den ökonomischen Nutzen einer getrennt geschlechtlichen Mast unterstreichen. Über die Ursachen kann nur spekuliert werden. Entweder reagieren die Mastschweine auf eine erhöhte Vitamin B-Zulage bei ad libitum und restriktiver Fütterung unterschiedlich oder der geschlechtliche Unterschied im Proteinbildungsvermögen wird durch die Vitamin B-Zulage verstärkt.

Besonders bei Schweinen mit hohem Proteinansatzvermögen steigerte eine Vitamin B-Zulage die Lebendmassezunahme mehr als bei Genotypen mit mittleren Ansatzvermögen (STAHLY et al. 1995). Die Erhöhung einzelner Vitamine wie Folsäure, Niacin oder Thiamin führte zu keiner Verbesserung der Mastleistung (LUTZ et al. 1999), während bei höheren Pyridoxinkonzentrationen im Futter bessere Lebendmassezunahme verzeichnet wurden (LUTZ und STAHLY 1998). Die Zulage von Pantothenensäure veränderte weder Lebendmassezunahme noch Futteraufwand, verbesserte aber den Magerfleischanteil und reduzierte die Rückenspeckdicke (STAHLY und LUTZ 2001, AUTREY et al. 2002). Für einen gesteigerten Proteinansatz sind über den gegenwärtigen Normen liegende Gaben an B-Vitaminen notwendig. Diese scheinen nicht mit einer höheren Energieaufnahme oder einem höheren Energieansatz zusammenzuhängen, sondern aus Veränderungen im Stoffwechsel zu resultieren (STAHLY et al. 2007).

Die positive Wirkung von erhöhten Vitamin B-Gaben scheint unter Stressbelastung höher zu sein (COEHLO 2001).

Für Praxisempfehlungen bedarf es einer Bestätigung dieser Ergebnisse durch weitere Versuche.

Literatur

Alert, H.J., Richter, G., Otto, F., Arnhold, W. (2005): Effects on enhanced vitamin B supplementation in fattening pigs. In: Schubert, R. et al. (eds) Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. 10. Symposium der FSU Jena und der BFL Braunschweig. 132-137

Cline, T.R., Hill, B. (2002): High levels of B-vitamins – do they help. Swine nutrition conference, 15-18

Coelho, M. (2001): Extra vitamins support lean growth. *Pig international* 31, 31-34

Lutz, T.R., Autrey, B.A., Stahly, T.S. (2002): Pantothenic acid modifies body composition in pigs. *Feedstuffs* 74, 19/26

Lutz, T.R., Stahly, T.S. (1998): Riboflavin needs for body maintenance, protein and fat accretion. *J Animal Sci* 81 (Suppl.1), 190

Lutz, T.R., Stahly, T.S., Cook, D.R., Ewan, R.C. (1999): Effects of dietary thiamin, folacin, or niacin regimen on growth in high lean pigs. *J Animal Sci* 77 (Suppl.1), 189

NRC (1998): Nutrient Requirement of Swine (10th Ed.). National Academic Press. Washington D.C.

Stahly, T.S., Cook, D.R. (1996): Dietary B vitamin needs of pigs with moderate or high level of antigen exposure. *J Animal Sci* 74 (Suppl.1), 170

Weiß, J., Quanz, G. (2003) Hat eine erhöhte Versorgung der Mastschweine mit B-Vitaminen einen Effekt auf Leistung und Wirtschaftlichkeit? Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung. Beiträge der Veranstaltung 02/03.04.2003 Fulda, 100-102

Autorenanschrift

Winfried Arnhold
H. Wilhelm Schaumann GmbH
An der Mühlenau 4; D-25421 Pinneberg
E-Mail: winfried.arnhold@schaumann.de

WHO CARES...

... ob sich Ihr Geflügel gut entwickelt und Ihr Betrieb seine Wirtschaftlichkeit weiter steigert?

Während die Geflügelproduktion wächst, bewerten die führenden Unternehmen nicht nur ihr Produktionsmanagement, sondern auch die Fütterungskonzepte stetig neu, um bei steigenden Kosten weiterhin wettbewerbsfähig zu bleiben.

Unternehmen auf der ganzen Welt vertrauen auf die jahrelange Erfahrung des „*Alltech Poultry Advantage*“-Programmes. Actigen™ als Teil dieses Programms verbessert die Tiergesundheit auf natürliche Weise und unterstützt die Futtermittelverwertung bei gleichzeitiger Steigerung der Gewichtszunahme. Actigen™ ist ein effizientes, sicheres und rückverfolgbares Produkt, zahlreiche Versuche stellen das unter Beweis.

Wenn Sie sich also fragen, wer sich in diesen Zeiten für die Wirtschaftlichkeit und Profitabilität Ihres Betriebs interessiert, denken Sie an

The Actigen logo consists of the word 'Actigen' in a blue, italicized, sans-serif font, with a trademark symbol (™) to the right. The background of the entire advertisement is a soft-focus image of a dandelion seed head with its seeds blowing away, set against a warm, golden light that creates a bokeh effect.

Actigen™

Alltech (Deutschland) GmbH | Wiesenstr. 21 (W21) | 40549 Düsseldorf
Tel: +49 211 5066858-0 | Fax: +49 211 5066858-9 | deutschland@alltech.com
Alltech.com/poultry AlltechNaturally @Alltech

Kontaktieren Sie uns unter poultryadvantage@alltech.com und erfahren Sie mehr über das

POULTRY ADVANTAGE
PROGRAMME von Alltech

Effect of Mannan Rich Fraction (MRF) on technical results and food pad lesions in broilers

Per Laustsen¹, Lode Nollet² and Louisa Haidle³

¹ Alltech Denmark, DK

² Alltech Netherlands B.V., BE

³ Alltech (Deutschland) GmbH, DE

Introduction

In broiler production, the continued strive for increased performance due to genetic improvement has led to increased issues with the broiler health status, in particular gut health. An impaired gut health not only leads to reduced technical and economic performance, but also to wet litter issues. The latter impacts the occurrence of food pad lesions in broilers, a topic which has drawn large attention by the public as it is seen as an indicator for animal welfare. Therefore managing gut health by nutritional ways is largely studied.

A special Mannan Rich Fraction (MRF) is considered to be a "growth permitter" through its role in immune modulation and improved intestinal health. Statistical meta-analyses of results from 18 broiler pen trials and a few field trials published during 2009-2012 using dietary MRF (200-800 g/T) comparing to an antibiotic free control showed that at an average broiler age of 41.72 days (n=29), MRF significantly and beneficially changed body weight by +0.80 kg (+3.34%), FCR or F/G ratio by -0.033 (-1.84%), and mortality % by -0.80 (-12.5% relative to the negative control) (Hooge et al., 2013).

Materials and methods

In this study, the use of a Mannan Rich Fraction (Actigen™, Alltech, Inc., Nicholasville, Kentucky, USA) on performance and food pad lesions using a pen trial combined with a large barn trial was investigated.

In the pen trial, six pens per treatment with 60 broilers per pen grown in a commercial broiler house in which the barn trial was also conducted. Feeds were wheat soy based and fed *ad libitum*. A three phase feeding strategy was used: starter (day 0-7), grower (day 8, including 5.9 % whole wheat grain till day 16 and thereafter 16.6 % until day 28) and finisher (day 29-34 (21.9 % whole wheat grain). Half of the pens were used as the control group, while in the feed for the other pens MRF was included at 800 g/T in starter, 500 g/T in grower and 300 g/T in finisher. Growth, feed intake and feed conversion ratio (FCR) after every feeding phase.

In the barn trial, half of the broiler house served as control (21,800 broilers) while the other half served as treatment (27,000 broilers MRF). Feed and treatments were similar as in the pen trial. Growth, feed intake, feed conversion and mortality were measured for the whole trial period. Food pad lesions (at 32 days of age) were conducted according to the official Danish method: 100 birds per treatment scored and points attributed scoring after which the points were totaled (max 200 points for 100 broilers): no lesions: 0 point; minor superficial damage: 0.5 point and severe damage: 2 points. Total points can vary between 0 and 200 for 100 broilers, 40 is max. legally allowed.

Results and discussion

The results of the pen trial are given in Table 1. Technical results were quite high. Despite the fact that there were no statistical differences, MRF led to an improved end weight of +35 g (+ 1 g/a/d), which was mainly due to strong growth during the final 6 days of the trial (+ 3.8 g/d). FCR was improved 3 points. Economic calculation revealed a profit of €25.80 per 1,000 broilers produced.

Table 1: Effect on MRF on the technical performance in the pen trial

	Day	Control	MRF	Diff.
Weight (g)	7	203	203	
	28	1703	1715	12
	34	2165	2200	35
Growth (g/a/d)	0-7	23.3	23.3	
	0-28	59.4	59.8	+0.4
	28-34	77	80.8	+3.8
	0-34	62.5	63.5	+1.0
FCR	0-7	0.85	0.81	-0.04
	0-28	1.41	1.40	-0.01
	0-34	1.50	1.47	-0.03

The technical results of the barn trial were quite similar to the pen trial reaching > 2,100 g life weight at 34 days with a FCR of approximately 1.6 (Table 2). Again, MRF reduced the FCR by 5 points, although the FCR was already quite low for the control group. The mortality was reduced by 0.6 %. Total food pad lesions scores were 45 for the control group but only 3 in the MRF group. This indicates that MRF reduced wet litter and thereby little or no damage of the food pads or hocks occurred (Figure 1). Economic calculation revealed a profit of €27.80 per 1,000 broiler produced.

Table 2: Effect on MRF on the technical performance in the barn trial

	Control	MRF	Difference
No. of animals	21800	27000	
Weight at slaughter (g)	2118	2135	17
FCR	1.61	1.56	-0.05
FCR at 2200 g	1.62	1.57	-0.05
Mortality (%)	3.9	3.3	-0.6
Food pad lesions (total no. of points)	45	3	-93%

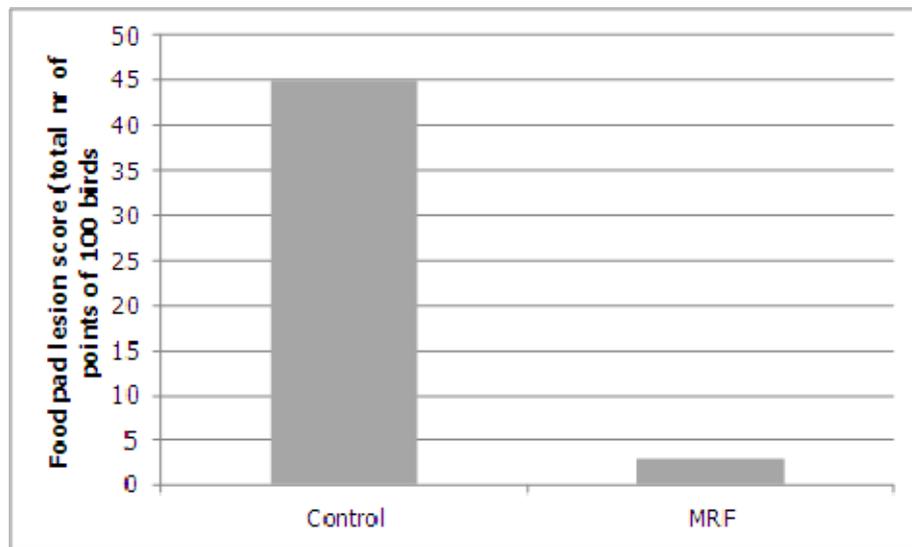


Figure 1: Total food pad lesion scores at 32 days of age

Conclusion

It can be concluded from this study that MRF (a) improved end weight by 17-35 g at 34 days of age, (b) reduced overall FCR by 3 to 5 points, (c) reduced mortality and (d) strongly reduced the food pad lesion score.

References

Hooge D.M., Kiers A., and Connolly A. (2013): Meta-Analysis Summary of Broiler Chicken Trials with Dietary Actigen™ (2009-2012). J. Anim. Science, Submitted.

Corresponding author

Dipl. Agr. Biol. Louisa Haidle
Beratung und Vertrieb Österreich
Alltech (Deutschland) GmbH
Wiesenstr. 21 (W21); D- 40549 Düsseldorf
E-mail: lhaidle@alltech.com

Lignocellulose Formulierung mit Amylase-hemmender Wirkung *in vitro* und *in vivo*

**Carina Schieder¹, Johann Gasteiner², Arthur Kroismayr³, Ernst Leidinger⁴,
Peter Ludwig⁴, Nina Neufeld⁵ und Werner Zollitsch¹**

¹ Institut für Nutztierwissenschaften, Department für Nachhaltige Agrarsysteme, Universität für Bodenkultur Wien, AT

² Lehr- und Forschungszentrum Raumberg-Gumpenstein, AT

³ Agromed Austria GmbH, AT

⁴ Invitro, Veterinärlabor, AT

⁵ Animal Nutrition Research Center, AT

Abstract

Change in genetics, increasing milk yield and fattening performance provoke a trend to high-energy feed rations for ruminants. Easily fermentable carbohydrates are a challenge for the physiological fermentation and digestion in the rumen. Excessive carbohydrate degradation causes imbalance of rumen flora and pH resulting in health disorders like acute and subacute rumen acidosis. Scientific background of the presented investigations was the assumption that amylase inhibiting substances may slow down carbohydrate degradation in the rumen and therefore have positive effects on rumen pH. The test substance was a lignocellulose with natural amylase inhibiting properties due to the selected raw material source. According to the mode of action claimed by the manufacturer the amylase inhibiting effect develops at decreasing pH but not at physiological rumen pH. Amylase inhibition in rumen fluid was proven *in vitro* initially. In the *in vivo* trial with four oxen and two cows only one cow developed a tendency to moderate acidosis as a result of a carbohydrate-rich diet. In this animal pH was higher during the trial periods (with supplementation of lignocellulose) in comparison with the control period. The test substance did not affect the physiological pH in the other five animals.

Einleitung

Die Fermentationsvorgänge im Pansen bedingen eine große physiologische Schwankungsbreite des intraruminalen pH-Bereichs von 5,5 bis 7,0 (Oetzel, 2007). Nach jeder Mahlzeit kommt es unweigerlich zu einem gewissen Abfall des pH-Wertes, der sich aber durch körpereigene Puffersubstanzen wieder normalisieren sollte.

Um den Anforderungen, welche die veränderten genetischen Rahmenbedingungen sowie eine stetig steigende Milch- und Mastleistung vorgeben, gerecht zu werden, besteht ein Trend zu energiereichen Kraftfuttermitteln bei Wiederkäuern. Eine vermehrte Verfütterung leicht verdaulicher Kohlenhydrate stellt eine Belastung für die physiologischen Verdauungsvorgänge und die Pufferkapazität im Pansen dar. Ein rascher Kohlenhydratabbau führt zu einer Verschiebung von Pansenflora und pH-Wert. Unterschieden werden die Krankheitsbilder von akuter Pansenazidose und subakuter Pansenazidose (SARA - subacute rumen acidosis). Die akute Pansenazidose ist durch einen einmaligen, raschen und massiven pH-Abfall in einen Bereich von 5,0 und darunter gekennzeichnet, der mit einem intraruminalen Anstieg an Milchsäure einhergeht (Nocek, 1997). Die Folge ist eine Stoffwechsellage des Tieres begleitet von Anorexie, Diarrhoe und Festliegen mit eventuell letalem Ausgang. Im Gegensatz dazu ist SARA gekennzeichnet durch das wiederkehrende Auftreten moderater azidotischer Phasen. Als Grenzwerte

werden von verschiedenen Autoren pH-Schwellen von 5,6 bis 5,8 angegeben (Cooper et al., 1999; Beauchemin et al., 2003; Gozho et al., 2005). Wiederkehrende azidotische Perioden unter diese pH-Wert Grenzen, insbesondere wenn sie mehrere Stunden pro Tag bestehen bleiben, werden als SARA definiert. Da das Pansenepithel nicht durch eine Mukusschicht geschützt ist, verursachen die wiederkehrenden Säureattacken Entzündungen (Ruminitis), wodurch ein Übertritt von Bakterien aus dem Pansen in den Blutkreislauf ermöglicht wird. Diese Bakterien stellen wiederum eine gesundheitliche Belastung dar und wirken als Prädispositionsfaktor für weitere chronische Gesundheitsstörungen (Leberabszess, Laminitis, Fruchtbarkeitsstörungen; Nocek, 1997). Weiters ist SARA auch ein Risikofaktor für das Entstehen einer akuten Pansenazidose.

Zur Beherrschung des Problems werden insbesondere Maßnahmen im Fütterungsmanagement sowie die Gabe von Puffersubstanzen (beispielsweise Natriumbicarbonat) herangezogen.

In der vorliegenden Arbeit wurde von der Überlegung ausgegangen, dass Substanzen mit Amylase-hemmender Wirkung in der Lage sind, den Kohlenhydratabbau im Pansen zu verlangsamen und sich somit positiv auf die pH-Stabilität und die Kohlenhydratverdauung auswirken.

Die vorliegende Arbeit beschreibt die ersten *in vitro* und *in vivo* Versuche mit einer Lignocellulose, die aufgrund ihrer Rohstoffquelle über Amylase-hemmende Eigenschaften verfügt.

Material und Methoden

Testsubstanz: Bei der Testsubstanz handelt es sich um Lignocellulose. Lignocellulose ist ein Futtermittelausgangserzeugnis, das aus unbehandeltem Frischholz hergestellt wird. Laut Hersteller enthält das Produkt aufgrund seiner artspezifischen Herkunft natürliche Amylase-hemmende Inhaltsstoffe, die im suboptimalen pH-Bereich von 5,8 und darunter ihre Wirkung entfalten. Die vom Hersteller empfohlene Dosierung liegt für Milchkühe bei 30-60g pro Tier pro Tag und für Mastrinder bei 15-25g pro Tier pro Tag.

***In vitro* Versuch**

Die Amylase-hemmende Wirkung der Testsubstanz in Pansensaft wurde untersucht. Einem gesunden, pansenfistulierten Ochsen wurde Pansensaft entnommen und sofort filtriert, um die festen Bestandteile von der flüssigen Phase zu trennen. Der Pansensaft wurde tiefgefroren in das Labor transportiert. Im Labor wurden die Proben im kalten Wasserbad aufgetaut und in Probenmengen von jeweils 10ml aufgeteilt. Für den Versuch wurden zu 10ml Pansensaft 0,5g der Testsubstanz eingewogen und in einem Magnetrührer bei 39°C für insgesamt 4 Stunden gerührt. Nach einstündiger Inkubationszeit wurde der Überstand in halbstündlichen Intervallen hinsichtlich Amylaseaktivität untersucht. Hierzu wurden jeweils 200µl abpipettiert und der Analyse zugeführt. Weitere Probenfraktionen wurden parallel dazu identisch behandelt, aber ohne Zusatz der Testsubstanz. Diese Proben dienten als Kontrollgruppe. Zur Messung der Amylaseaktivität wurde die kinetische Maltotriose Methode gewählt. Hierbei katalysiert alpha-Amylase die Hydrolyse des Substrats Maltotriosid (CNP3), wobei (CNP), 2-Chloro-4-Nitrophenyl-alpha-D-Maltosid (CNP2), Maltotriose (G3) und Glukose entstehen. Nach 70 Sekunden wird die Extinktion von 2-Chloro-4-Nitrophenol kinetisch bei 405nm und 577nm bichromatisch gemessen. Durchgeführt wurde die photometrische Bestimmung mit dem automatisierten, chemischen Analysegerät Dimension RxL (Siemens Diagnostics). Die Ergebnisse wurden als Mittelwert aus Doppelbestimmungen errechnet.

***In vivo* Versuch**

Tiere: Der Fütterungsversuch wurde im Lehr- und Forschungszentrum Raumberg-Gumpenstein im Rahmen einer Masterarbeit der Universität für Bodenkultur Wien durchgeführt (Schieder, 2012). Bei den Versuchstieren handelte es sich um drei pansenfistulierte Braun Swiss Ochsen, einen pansenfistu-

lierten Holstein Friesian Ochsen, eine trächtige Holstein Friesian Kuh sowie eine leerstehende Holstein Friesian Kuh. Die Tiere wurden in drei Gruppen eingeteilt, die dann im 3x3-Lateinischen Quadrat den Versuch durchlaufen haben (Tabelle 1). Jeweils die erste der drei Wochen einer Versuchsperiode wurde als Adaptationszeit gewertet, die beiden verbleibenden Wochen wurden als Versuchsphasen definiert.

Tabelle 1: Versuchsdesign: Einteilung der Versuchsphasen

	Kontrollperiode ohne Testsubstanz	30g Testsubstanz	60g Testsubstanz
Periode 1 (19.12.11-1.1.12)	Tier 1+2	Tier 3+4	Tier 5+6
Periode 2 (9.1.12-22.1.12)	Tier 3+4	Tier 5+6	Tier 1+2
Periode 3 (30.1.12-12.2.12)	Tier 5+6	Tier 1+2	Tier 3+4

Pansensensor und Datenerhebung: Allen Versuchstieren wurde vor Versuchsbeginn je ein Pansensensor eingegeben. Pansensoren zeichnen laufend pH-Wert und Temperatur im Retikulum auf und senden die Werte periodisch an ein externes Empfangsgerät. Die dort gespeicherten Daten können computertechnisch ausgewertet und als pH- und Temperaturkurven dargestellt werden (Gasteiner et al., 2012; Schneider, 2010). Die Auswertung der Messdaten der Pansensoren wurde mit der statistischen Analysesoftware SAS 9.2 durchgeführt.

Futter und Fütterungsmanagement: Die Tiere wurden zweimal täglich gefüttert. Die Futterkomponenten wurden zu jeder Mahlzeit eingewogen und tierindividuell in Wannen vorgesetzt. Die Ration ist der Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2: Futtermittel pro Tag

Futtermittel	Anteil in Ration in %	Frischmasse in kg	Trockenmasse in kg	Trockenmasse Auf- nahme in kg
Maissilage	50	18,2	33,0	6,0
Heu	10	1,4	86,5	1,2
Kraftfutter	40	5,5	88,0	4,8

Kraftfutterzusammensetzung: je ein Drittel Gerste, Weizen, HP Sojaextraktionsschrot

Ergebnisse

***In vitro* Versuch:** Der beschriebene *in vitro* Versuch gibt Aufschluss über eine Amylase-hemmende Wirkung der Testsubstanz. Innerhalb der ersten drei Stunden der Inkubationszeit wurde die Amylaseaktivität im Pansensaft durch die Testsubstanz um rund 25 Prozent verringert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

***In vivo* Versuch:** Die Ergebnisse wurden bereits in einer früheren Arbeit umfassend dargestellt (Schieder, 2012). Die Pansensoren haben gemäß den Herstellerangaben für eine Dauer von mindestens 50 Tagen Daten aufgezeichnet. Ein Pansensensor hat gerade mit dem 50. Tag seine Aktivität eingestellt. Zu diesem Zeitpunkt befand sich das Versuchstier noch im letzten Versuchsabschnitt, gemäß der Versuchsanordnung in der Periode mit einer Supplementierung von 30g Testsubstanz pro Tag. Aus diesem Grund konnte keine vollständige statistische Auswertung der 30g Versuchsperiode durchgeführt werden. Tabelle 4 legt die Lage- und Streuungsmaße der pH-Messungen in den drei Versuchsperioden dar. Abbildung 1 stellt die pH Mittelwerte der beiden als Versuchsphase definierten Wochen jedes Versuchsabschnittes dar (die erste Woche jedes Versuchsabschnittes wurde als Adaptationszeit nicht bewertet). Tabelle 5 gibt die Lage- und Streuungsmaße in den verschiedenen Versuchsabschnitten zum Zeitpunkt der Fütterungen und in definierten Abständen nach den Fütterungen wieder.

Tabelle 3: Hemmung der Amylaseaktivität der Testsubstanz in Pansensaft *in vitro*

Messzeitpunkt nach x min Inkubationszeit	Amylaseaktivität in U/l		Amylaseaktivität in % der Kontrolle
	Kontrolle	Versuch	
60	209	129	61,7
90	212	153	72,2
120	197	149	75,6
150	211	159	75,3
180	204	153	75,0
210	194	163	84,0
240	181	167	92,3

Tabelle 4: Lage- und Streuungsmaße der von den Pansensensoren aufgezeichneten pH-Werte

	Kontrollperiode	30g Testsubstanz	60g Testsubstanz
Anzahl der Werte	11.953	10.064	11.953
Mittelwert	6,40	6,44	6,38
Standardabweichung	0,266	0,218	0,297
Varianz	0,071	0,047	0,088
Median	6,44	6,46	6,44
Modalwert	6,45	6,48	6,46
Maximum	7,16	7,20	7,00
Minimum	5,25	5,43	5,16

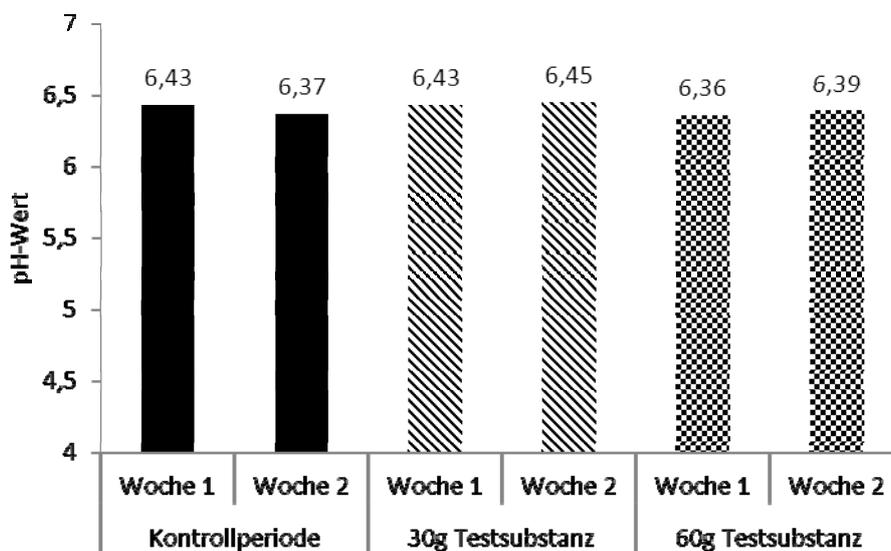


Abbildung 1: Die pH Mittelwerte der Versuchsphasen jedes Versuchsabschnittes liegen im physiologischen Bereich

Tabelle 5: Lage- und Streuungsmaße der pH-Werte zu definierten Messzeitpunkten zeigen in allen Versuchsphasen einen geringen, physiologischen pH-Abfall nach der Fütterung

Versuchsphase	Messzeitpunkt nach der Fütterung in Stunden	pH Durchschnitt	Standard-abweichung	Varianz	Spannweite
Kontrollperiode	0	6,42	0,319	0,102	1,650
	2,5	6,29	0,252	0,063	1,230
	8	6,50	0,197	0,039	1,040
	11	6,57	0,199	0,040	1,210
30g Testsubstanz	0	6,48	0,255	0,065	1,100
	2,5	6,30	0,229	0,053	1,180
	8	6,53	0,171	0,029	0,960
	11	6,62	0,139	0,019	0,860
60g Testsubstanz	0	6,42	0,309	0,095	1,360
	2,5	6,25	0,294	0,086	1,440
	8	6,49	0,244	0,059	1,140
	11	6,57	0,219	0,048	1,010

Diskussion

Der pH-Wert im Pansen unterliegt tierindividuellen und fütterungsbedingten physiologischen Schwankungen. Ein Schwankungsbereich von 7,0 bis zu kurzfristig 5,5 wird als physiologisch angesehen, azidotische Phasen von 5,8 und darunter werden von den meisten Autoren erst dann als problematisch angesehen, wenn sie über längere Zeiträume periodisch wiederkehren und mehrere Stunden pro Tag bestehen bleiben. Im beschriebenen Fütterungsversuch wurde eine Ration gewählt, die reich an leicht verdaulichen Kohlenhydraten war. Damit sollten vermehrt azidotische Phasen provoziert werden. Aus den Tabellen 4 und 5 sowie der Abbildung 1 ist ersichtlich, dass sich die Tiere durchschnittlich im physiologischen Bereich bewegt haben. Auch die Fütterungen selbst haben keinen pH-Abfall in einen als unphysiologisch definierten azidotischen Bereich bewirkt.

Die Testsubstanz entfaltet nach Herstellerangaben erst einhergehend mit einem sinkenden pH-Wert ihre Amylase-hemmende Aktivität. Dies ist eine plausible Erklärung, warum im vorliegenden Versuch keine Unterschiede der pH Mittelwerte oder Medianwerte der verschiedenen Versuchsabschnitte festgestellt werden konnten, da sich die Tiere weitgehend im physiologischen pH-Bereich bewegten.

Eine tierindividuelle Betrachtung der einzelnen pH-Kurven über den gesamten Versuchszeitraum zeigt für die tragende Milchkuh eine Tendenz zu azidotischen Phasen während des Kontrollzeitraums (Abbildung 2). Dieses Versuchstier lag während des Kontrollzeitraums durchschnittlich rund zwei Stunden unter der pH-Schwelle von 5,8. Der positive Einfluss der Testsubstanz, insbesondere in der empfohlenen Tagesdosierung von 30g, ist in Abbildung 3 erkennbar.

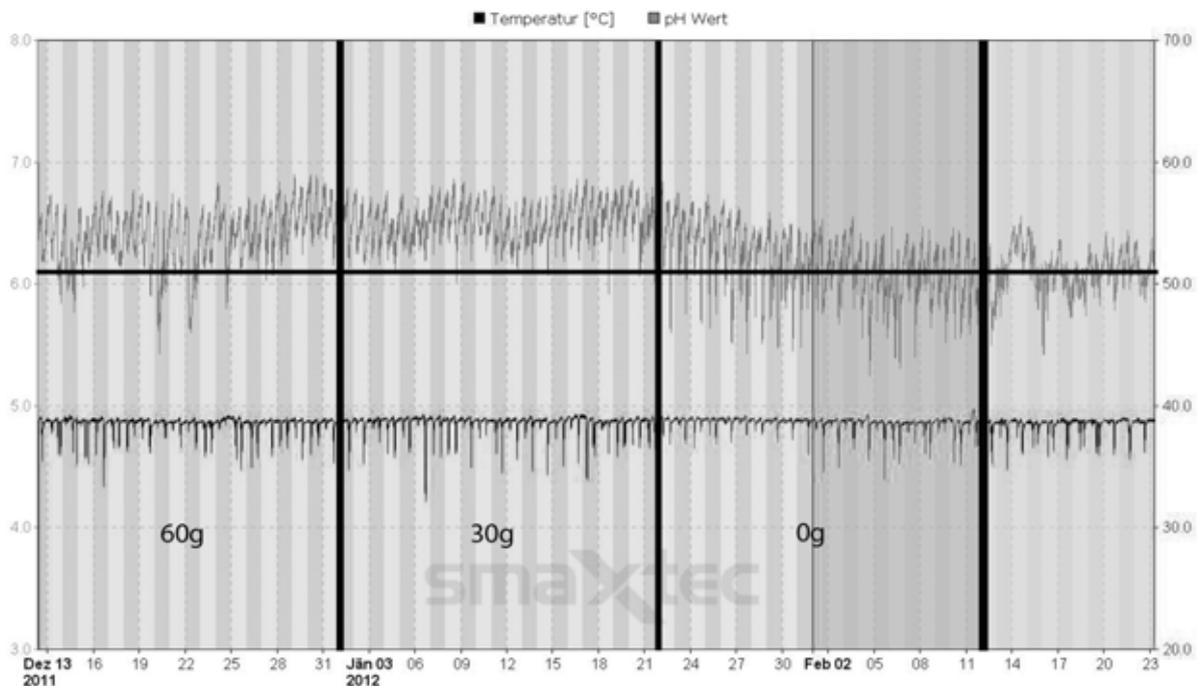


Abbildung 2: pH Kurve der Milchkuh mit Tendenz zu unphysiologischen, azidotischen Perioden; eingezeichnet sind die verschiedenen Versuchsabschnitte sowie der pH Mittelwert der Kontrollphase (pH 6,09)

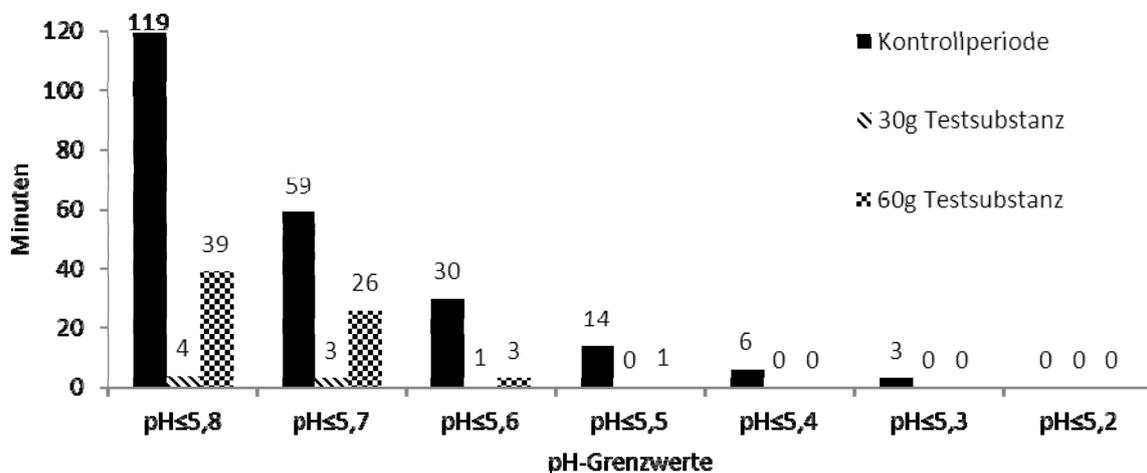


Abbildung 3: Milchkuh mit Tendenz zu unphysiologischen, azidotischen Perioden: Verweildauer unter der kritischen pH-Schwelle von 5,8 in den verschiedenen Versuchsphasen

Schlussfolgerung

Der beschriebene *in vitro* Versuch lässt Rückschlüsse zu, dass das getestete Lignocelluloseprodukt über Amylase-hemmende Eigenschaften verfügt.

In vivo zeigt die Testsubstanz im physiologischen pH-Bereich entsprechend den Angaben des Herstellers keine Effekte auf Kohlenhydratverdauung und Pansen pH-Wert. Im dargestellten *in vivo* Versuch konnte bei nur einem Versuchstier eine Tendenz zu unphysiologischen, azidotischen Perioden provoziert werden. Diese Perioden waren unter Einfluss der Testsubstanz kürzer als während des Kontrollzeitraums.

Literatur

Beauchemin KA, Yang WZ, Rode LM (2003): Effects of particle size of alfalfa based dairy cow diets on chewing activity, ruminal fermentation and milk production. *J Dairy Science* 86: 630-643

Cooper RJ, Klopfenstein TJ, Stock RA, Hilton CA, Herold DW, Parrott JC (1999): Effects of imposed feed intake variation on acidosis and performance of finishing steers. *J Animal Science* 77: 1093-1099

Gasteiner J, Boswenger B, Guggenberger T (2012): Erfahrungen zum praktischen Einsatz des Pansensensors auf Milchviehbetrieben. *Praktischer Tierarzt* 93 (8): 730-739

Gozho GN, Plaizier JC, Krause DO, Kennedy AD, Wittenberg KM (2005): Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharid release and triggers an inflammatory response. *J Dairy Science* 88: 1399-1403

Nocek JE (1997): Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. *J Dairy Science* 80: 1005-1028

Oetzel GR (2007): Subacute Ruminant Acidosis in Dairy Herds: Physiology, Pathophysiology, Milk Fat Responses, and Nutritional Management. Preconference Seminar 7A: Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Lameness, Cow Comfort, and Ruminant Acidosis AMERICAN ASSOCIATION OF BOVINE PRACTITIONERS 40th Annual Conference, September 17, 2007 – Vancouver, BC, Canada; pp. 89-119

Schieder C (2012): Einfluss einer Lignocellulose mit Amylase-hemmenden Eigenschaften auf den pH Wert im Pansen des Rindes. Masterarbeit, Universität für Bodenkultur Wien

Schneider K (2010): Vergleichende Untersuchungen zur Pansensaftentnahme und zur Messung des pH-Wertes im Vormagensystem von Rindern. Dissertation der Veterinärmedizinischen Universität Wien, S. 16

Autorenanschrift

Dr. Nina Neufeld
Animal Nutrition Research Center
Sattelbach 13; A-2532 Heiligenkreuz
E-Mail: ddr.neufeld@utanet.at

GOING BACK TO THE ROOTS, WE FOUND THE FUTURE:

OptiCell[®] Ruminant



pH ↑

A NEW TOOL TO STABILIZE RUMEN PH

Wirkung eubiotischer Lignocellulose auf die Abferkeldauer von Zuchtsauen

L. Baarslag¹, A. van Enckevort¹, R. Boonekamp² und A. Kroismayr³

¹ Denkavit Ingredients, NL

² For Farmers, NL

³ Agromed Austria GmbH, AT

Einleitung

Eine verminderte Darmperistaltik im peri-parternalen Zeitraum (kurz vor und nach der Geburt) kann ein Problem in der Zuchtsauenfütterung darstellen da sie zu sehr hartem Kot und fallweise zu Verstopfung führen kann. Als Folge wird in der Literatur (Martineu et al. 1992; Kamphues et al. 1998) eine erhöhte Belastung der Tiere durch Endotoxine aus dem Darm sowie erhöhte MMA Häufigkeit beschrieben.

Der gezielte Einsatz bestimmter Rohfaserquellen eignet sich jedenfalls die Defäkationsfrequenz positiv zu beeinflussen (Nelson et al. 1992) und somit Verstopfungen vorzubeugen.

Palisse et al. (1979) konnten nachweisen, dass eine Reduktion des Rohfaseranteils im Futter zu einer deutlich erhöhten Inzidenz von Störungen der Defäkation während der Trächtigkeit führte.

Eine grundsätzliche Erhöhung des Rohfasergehalts führt zu einer Erhöhung der Passagegeschwindigkeit im Colon was zu weicherem Dickdarminhalt (Morgenthum und Bolduan 1987) und erhöhter Kotabsatzhäufigkeit (Masse et al. 2003) führt.

Warzecha (2006) konnte nachweisen, dass der Einsatz von Lignocellulose eine positive Auswirkung auf die Kotbeschaffenheit und -qualität von Zuchtsauen hat. Braunsberger (2009) hat eine verkürzte Abferkeldauer durch die mehrwöchige Zugabe von ca. 2.5% eubiotischer Lignocellulose im Vergleich zu etwa 10% Weizenkleie bei gleichbleibendem Rohfasergehalt der Vergleichsrationen festgestellt. Dies führt der Autor auf die spezielle Wirkung von eubiotischer Lignocellulose auf die Darmperistaltik (Entleerung des Dickdarm prepartum) zurück.

In der in dieser Übersicht beschriebenen Studie wurde der Einfluss von 1% eubiotischer Lignocellulose (OptiCell[®], agromed Austria) auf die Abferkeldauer von Zuchtsauen untersucht.

Material und Methoden

39 Sauen (Topigs 30 Genetik, besamt mit Pietrain Genetik) wurden ca. eine Woche vor dem kalkulierten Abferkeltermin auf zwei Futtergruppen aufgeteilt. Versuchsende war der Absetztag, im Durchschnitt 26 Tage nach dem Abferkeln. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten ein Standard-Laktationsfutter, die Versuchsration enthielt 1% eubiotische Lignocellulose welche auf Kosten von Sonnenblumenschrot substituiert wurde (Tabelle 1).

Das Abferkelverhalten der einzelnen Tiere wurde Tag und Nacht überwacht. Folgende Parameter wurden bei diesem Versuch erhoben:

- Tägliche Futteraufnahme der Zuchtsauen ab der Umstallung in den Abferkelstall bis zum Absetzen
- Anzahl aller geborenen Ferkel (lebend, tot, mumifiziert)
- Geburtsgewicht der Ferkel

Alle Tiere erhielten während der Tragendphase die gleiche Diät. Mit der Umstallung der Tiere in den Abferkelstall (ca. 7d prepartum) wurden die zwei verschiedenen Versuchsfutter die sich im Gehalt an Lignocellulose unterschieden (ja/nein) verabreicht.

Tabelle 1: Errechnete Nährstoffgehalte der Zuchtsauen-Rationen

		Kontrolle	Lignocellulose
Rohprotein	(%)	15.0	15.0
Rohfett	(%)	4.8	5.0
Rohfaser	(%)	5.7	6.1
Rohasche	(%)	6.8	6.7
Feuchtigkeit	(%)	12.0	11.9
Stärke	(%)	34.5	34.8
Ca (total)	(%)	0.98	0.98
P (total)	(%)	0.55	0.54
Energie	MJ	9.4	9.4

Ergebnisse

Die Dauer des Geburtsvorganges wurde von allen Tieren im Versuch erhoben. Der Geburtsvorgang startete mit der Geburt des ersten und endete mit der Geburt des letzten Ferkels.

Die Daten waren nicht normalverteilt weshalb sie mit einem nicht – parametrischen Test (Mann Whitney U) statistisch analysiert wurden.

Dabei zeigte sich ein numerisch stark verkürzter Geburtsvorgang in der Lignocellulose Gruppe. Dieser Effekt war aber aufgrund der hohen Streuung nicht statistisch absicherbar.

Tabelle 2: Geburtsdauer in Minuten (Median und Interquartilsabstand)

	Kontrolle	Versuch	Sign.
N Sauen	20	19	
1. Ferkel – letztes Ferkel	220 (154 – 330)	180 (149 – 265)	0.41

Ingesamt wurden 20 Sauen der Kontrollgruppe und 19 der Versuchsgruppe in die Ergebnisanalyse miteinbezogen. Tabelle 3 zeigt die Anzahl der Ferkel pro Wurf, die Anzahl lebend geborener, tot geborener sowie muifizierter Ferkel. Es zeigte sich, dass die Ferkelzahl pro Wurf fast gleich mit 16.0 in der Kontrollgruppe bzw. 15.9 in der Lignocellulose Gruppe war. Ebenso war die Anzahl mumifizierter Ferkel sehr ähnlich (3.0% vs. 2.6%). Unterschiede konnten allerdings bei der Anzahl lebend geborener Ferkel beobachtet werden. (90.2% vs. 93.2%).

Für die weitere Datenanalyse wurden die Ferkel in zwei Gruppen eingeteilt. Jene die in der ersten Hälfte des Geburtsvorgangs geboren wurden und jene die in der zweiten Hälfte geboren wurden. Dabei zeigte sich, dass die Ferkel die in der 2. Hälfte des Geburtsvorgangs geboren wurden eine wesentlich höhere Sterblichkeit aufwiesen als jene der ersten Hälfte (Tabelle 4).

Tabelle 3: Information über die geborenen Ferkel

	Kontrolle	Lignocellulose
	20	19
Ferkel pro Wurf	16.0 ± 3.2	15.9 ± 3.4
Ferkel total	328	310
• Ferkel lebend geboren	296 (90.2%)*	289 (93.2%)*
• Ferkel tot geboren	22 (6.7%)*	13 (4.2%)*
• Mumifizierte Ferkel	10 (3.0%)*	8 (2.6%)*

* in Prozent der total geborenen

Tabelle 4: Anzahl und Prozent lebend oder totgeborener Ferkel in Abhängigkeit des Voranschreitens des Geburtsprozesses **ohne** mumifizierte Ferkel

n Ferkel*	Kontrolle			Lignocellulose		
	Gesamt	Lebend	Tot	Gesamt	Lebend	Tot
	318*			302*		
Geburtshälfte	164	160	4 (2.4%)	155	154	1 (0.6%)
Geburtshälfte	154	136	18(11.7%)	147	135	12 (8.2%)
Total	318	296	22 (6.9%)	302	289	13 (4.3%)

* mumifizierte Ferkel wurden nicht berücksichtigt

Alle Ferkel wurden unmittelbar nach der Geburt gewogen. Die lebend geborenen Ferkel der Lignocellulose Versuchsgruppe zeigten statistisch signifikant höhere Geburtsgewichte. Sowohl jene die in Geburtshälfte 1 als auch jene die in Geburtshälfte 2 geboren wurden (Tabelle 5).

Tabelle 5: Geburtsgewichte der Ferkel

	Kontrolle	Lignocellulose	p-Wert
Geburtsgewicht			
• Lebend geboren (g)	1127 ± 266	1241 ± 324	<0.01
• Tot geboren (g)	857 ± 373	942 ± 295	0.49
• Ferkel geb. in Hälfte 1 (g)*	1092 ± 272	1212 ± 321	<0.01
• Ferkel geb. in Hälfte 2 (g)*	1125 ± 293	1246 ± 336	<0.01

Analysiert mit SPSS (T-test)

*lebend und tot geborene Ferkel

Diskussion

Der Einsatz eubiotischer Lignocellulose im geburtsnahen Zeitraum (ab 1 Woche vor dem Abferkeln) bis zum Absetzen hat sich positiv auf die Abferkelzeit bzw. die Dauer des gesamten Geburtsvorgangs ausgewirkt. Dies steht im Einklang mit den von Braunsberger (2009) erhobenen Daten wo das gleiche eingesetzte Lignocellulose Produkt (OptiCell®) ebenso zu signifikant verkürzter Abferkeldauer führte. Dies dürfte an der positiven Wirkung von eubiotischer Lignocellulose auf die Dickdarmpassage liegen. Dieser Effekt dürfte zu einer rascheren prepartalen Entleerung des Darmrohres führen was wiederum den Geburtsvorgang erleichtert.

Die in dieser Studie beobachtete erhöhte Überlebensrate der Ferkel in der Lignocellulose Gruppe hängt direkt mit der verkürzten Abferkeldauer zusammen. Wie die Daten zeigen, steigt die Ferkelsterblichkeit bei spät geborenen Ferkeln stark. Je kürzer also der Geburtsvorgang im allgemeinen, desto niedriger die Ferkelsterblichkeit.

Interessant ist sicher auch das signifikant höhere Ferkelgewicht nach der Geburt in der Lignocellulose Gruppe. Dies dürfte in direktem Zusammenhang mit einer verbesserten Nährstoffverwertung der Sau bedingt durch die präbiotische Wirkung eubiotischer Lignocellulose stehen.

Schlussfolgerung

Diese Studie hat gezeigt dass sich der Einsatz eubiotischer Lignocellulose im Laktationsfutter von Zuchtsauen (1 Woche prepartum bis zum Absetzen) positiv auf die Dauer des Geburtsvorgangs, die Ferkelüberlebensrate sowie die Geburtsgewichte der Ferkel auswirkt.

Literatur

- BRAUNSBERGER, F. (2009): Einfluss verschiedener Rohfaserträger auf die Reproduktionsleistung von Zuchtsauen. Diplomarbeit, HFLS St. Florian, Austria
- KAMPHUES, J. (1998): Peripartale Fütterungsmaßnahmen bei Sauen. Prakt. Tierarzt 79, 76
- MARTINEAU, G. P., B. B. SMITH u. B. DOIZÉ (1992): Pathogenesis, prevention and treatment of lactational insufficiency in sows. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 8 (3), 661-680
- MASSÉ, D. I., F. CROTEU, L. MASSE, R. BERGERON, J. BOLDUE, Y. RAMONET, M. C. MEUNIER-SALAFIN u. S. ROBERT (2003): Effect of dietary fiber incorporation on the characteristics of pregnant sows slurry. Can. Biosystem Engineering 45, S. 6.7 - 6.12
- MORGENTHUM, R., u. G. BOLDUAN (1987): Zur Beeinflussung der Dauer des Geburtsvorganges durch Lebendmasse und Diätfaktoren bei Sauen. Monatsh. Veterinärmed. 43, 194-196
- NELSON, D. A., M. G. HOGBERG, E. R. MILLER u. M. S. ALLEN (1992): Wheat straw and soybean hull additions to sow gestation diets during two consecutive parities. Michigan State University Swine Rpt. 92, 10
- PALISSE, M., M. COLIN u. Y. MAURY (1979): Etudes de quelques aspects du transit digestifs chez la truie gestantes: Variation avec le taux de cellulose et relation avec le phenomene de constipation. J. Rech. Porcine en France 11, 217-222
- Warzecha, A (2006) : Untersuchungen zu Fütterungseinflüssen (Einsatz von Trockenschnitzeln bzw. Lignocellulose sowie unterschiedliche Vermahlungsgrade der Mischfutterkomponenten) auf die Kotbeschaffenheit und -zusammensetzung bei Sauen Dissertation, TiHo Hannover, Germany

Autorenanschrift

Dr. Arthur Kroismayr
Bad Haller Straße 23
A-4550 Kremsmünster (Österreich)
E-Mail: kroismayr@agromed.at

Effect of inoculant type on dry matter losses, fermentation pattern, yeast count and aerobic stability of green rye silages

Horst Auerbach¹, Kirsten Weiss², Peter Theobald¹ and Elisabet Nadeau³

¹ ADDCON EUROPE GmbH, DE

² Humboldt Universität Berlin, DE

³ Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Environment and Health, Skara, SE

Introduction

Production of green rye silages has attracted attention in different European regions because it forms a suitable complementary silage source in maize silage-based diets for dairy cows. However, this type of silage may be susceptible to poor fermentation by clostridia, or may deteriorate upon exposure to air by yeasts, which can be excluded by the use of suitable inoculants containing different lactic acid bacteria species and strains. The composition of commercially available inoculants varies greatly in type and number of strains and inoculation rate. According to Honig and Thaysen (2002), who evaluated the results of numerous ensiling trials, homofermentative lactic acid bacteria (LAB_{ho}) are known to improve silage fermentation but frequently impair aerobic stability (ASTA). To enhance ASTA, the use of heterofermentative lactic acid bacteria (LAB_{he}) is advised (Kleinschmidt and Kung 2006). In certain conditions, the use of combinations of LAB_{ho} and LAB_{he} may be necessary to concurrently ensuring good fermentation quality and alleviating the detrimental effects of LAB_{ho} on aerobic stability (Driehuis et al. 2001). Therefore, the aim of the study was to investigate the effects of different types of inoculants on dry matter (DM) losses, fermentation pattern, yeast count and ASTA of green rye silages.

Materials and methods

Green rye (*Secale cereale*) was mowed before ear emergence, slightly wilted and subsequently chopped by a Claas Jaguar chopper. The wilted herbage was analysed for nutrient composition and yeast counts according to the official German feed evaluation system (VDLUFA 2011). Prior to ensiling in 1.6 L glass jars (n=3 per treatment), the material was treated with one of the following inoculants manufactured by ADDCON EUROPE GmbH: KOFASIL LAC containing LAB_{ho} (*Lactobacillus plantarum* DSM 3676, *Lactobacillus plantarum* DSM 3677) at inoculation rates (IR) of 1x10⁵ cfu/g (KLAC) and 1x10⁶ cfu/g (KLAC10); KOFASIL S (KS), containing LAB_{he} (*Lactobacillus buchneri* DSM 13573), IR: 1x10⁵ cfu/g; KOFASIL DUO (KDUO), combination of KLAC and KS, IR: 2x10⁵ cfu/g, which were compared with an untreated control (CON). The silages were stored at 20-22 °C for 91 days. The losses of DM during fermentation were calculated according to Weissbach (2005). Silage DM was corrected for the loss of volatiles during drying as described by Weissbach and Strubelt (2008). The pH of the silages was measured potentiometrically, whereas ammonia-N concentration was determined colorimetrically by SCALAR (CFA), which is based on the Berthelot reaction. Lactic acid was detected by HPLC and GC analysis was employed for short-chain fatty acids and alcohols (Weiss 2001). The count of lactate-assimilating yeast (LAY) was determined according to Jonsson and Pahlow (1984). Water-soluble carbohydrates (WSC) in silages were determined by the anthrone method (Lengerken and Zimmermann 1991). The measurement of ASTA in the silages was performed by monitoring temperature development for 9 days (Honig 1990), and the number of days before the silage temperature

increased by 2 °C above ambient temperature is presented. Data were statistically evaluated by using the PROC GLM and REG of SAS, version 9.3. When a significant F-test was detected ($P < 0.05$), a pairwise comparison between LSMEANS was performed by the Tukey's test. Yeast counts below the detection limit (log 2.0 cfu/g) were set at log 1.0 cfu/g for statistical analysis.

Results

Data summarized in table 1 indicate that the crop was of high nutritive quality at the time of ensiling, as reflected by low fibre and high sugar contents, which resulted in high energy concentration. The crop contained trace amounts of nitrate and was heavily infested by yeasts.

Table 1: Chemical composition and yeast count (n=3) of the wilted herbage according to VDLUFA (2011)

	DM (%)	XA	XP	XF (% of DM)	Sugar	Nitrate ¹	Energy (MJ/kg DM)		Yeasts (log cfu/g)
							ME	NE _L	
Mean	27.3	10.0	13.5	23.5	17.3	0.04	11.1	6.8	5.7
SD	0.17	0.25	0.12	0.57	0.20	-	0.12	0.12	0.39

XA crude ash, XP crude protein, XF crude fibre, ME metabolisable energy, NE_L net energy lactation, ¹ n=1

Table 2: Effects of inoculants on DM losses, fermentation pattern, water-soluble carbohydrate content, lactate-assimilating yeasts and aerobic stability of green rye silages after 91 days of fermentation (n=3)

Parameter	CON	KLAC	KLAC10	KDUO	KS	SEM	P value
DM losses (%)	7.8 ^b	4.9 ^c	4.6 ^c	4.9 ^c	10.0 ^a	0.067	<0.0001
pH, day 3	4.98 ^a	3.91 ^c	3.84 ^d	3.88 ^{cd}	4.23 ^b	0.010	<0.0001
pH, day 91	4.00 ^b	3.91 ^c	3.91 ^c	3.90 ^c	4.47 ^a	0.005	<0.0001
NH ₃ -N (% total N)	15.7 ^a	7.9 ^b	7.1 ^b	8.6 ^b	17.4 ^a	0.579	<0.0001
Lactic acid (% of DM)	10.86 ^a	11.62 ^a	11.51 ^a	11.12 ^a	3.49 ^b	0.183	<0.0001
Acetic acid (% of DM)	1.40 ^b	0.46 ^d	0.43 ^d	0.89 ^c	4.43 ^a	0.070	<0.0001
Butyric acid (% of DM)	0.15 ^a	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0.019	<0.0008
Ethanol (% of DM)	0.57 ^a	0.39 ^b	0.35 ^b	0.16 ^c	0.55 ^a	0.034	<0.0001
1,2 Propanediol (% of DM)	0.44 ^b	0 ^c	0 ^c	0.17 ^{bc}	4.37 ^a	0.094	<0.0001
WSC (% of DM) ¹	2.4 ^c	13.6 ^a	14.4 ^a	8.4 ^b	1.1 ^c	0.369	<0.0001
LAY (log cfu/g) ²	2.0 ^{bc}	5.6 ^a	5.5 ^a	3.3 ^b	<1.0 ^c	0.440	<0.0001
Aerobic stability (days)	4.9 ^b	2.0 ^c	2.1 ^c	5.8 ^b	9.0 ^a	0.458	<0.0001

CON control, KLAC=KOFASIL LAC, 1x10⁵ cfu/g, KLAC10=KOFASIL LAC, 1x10⁶ cfu/g, KDUO=KOFASIL DUO, KS=KOFASIL S; ¹water-soluble carbohydrates; ²lactate-assimilating yeasts; LSMEANS in rows bearing unlike superscripts differ (Tukey's test)

There was an overall treatment effect on all tested silage quality parameters (table 2). Treatments KLAC, KLAC10 and KDUO decreased DM losses, whereas KS increased it compared to CON. All treatments increased acidification rate, whereas final pH was highest in KS silages and lowest in those that had received LAB_{no}-containing products. Except KS, all inoculants decreased ammonia-N concentration when compared to CON. Silages inoculated with KS had the lowest lactic acid content and the highest acetic acid contents of all treatments. Butyric acid was only detected in untreated silages. Silage ethanol content was decreased by applying KLAC, KLAC10 and KDUO compared to CON, with the largest decrease observed by KDUO. Treatments KLAC and KLAC10 did not contain 1,2-propanediol (1,2PD). Silages treated with KS contained more 1,2PD than was found in CON and KDUO. The use of KLAC and KLAC10 caused highest residual WSC concentrations, followed by treatments KDUO, CON and KS. Counts of LAY were below the detection limit in the KS treatment, whereas the addition of KLAC and

KLAC10 increased LAY numbers compared to CON and KDUO. Maximum ASTA was attained by applying KS, whereas the use of pure LAB_{ho}-inoculants resulted in least stability upon air exposure.

Regression analyses on certain relationships between selected green rye silage parameters revealed a strong linear correlation between LAY count at the end of fermentation and ASTA ($R^2=0.85$, $P<0.0001$) (figure 1). With increasing acetic acid content, LAY count decreased ($R^2=0.84$, $P<0.0001$) and ASTA improved ($R^2=0.88$, $P<0.0001$) (figure 2). Data in figure 3 showed enhanced residual WSC concentrations in the silages prior to air exposure to increase LAY count ($R^2=0.87$; $P<0.0001$) but to impair ASTA ($R^2=0.72$, $P<0.0001$).

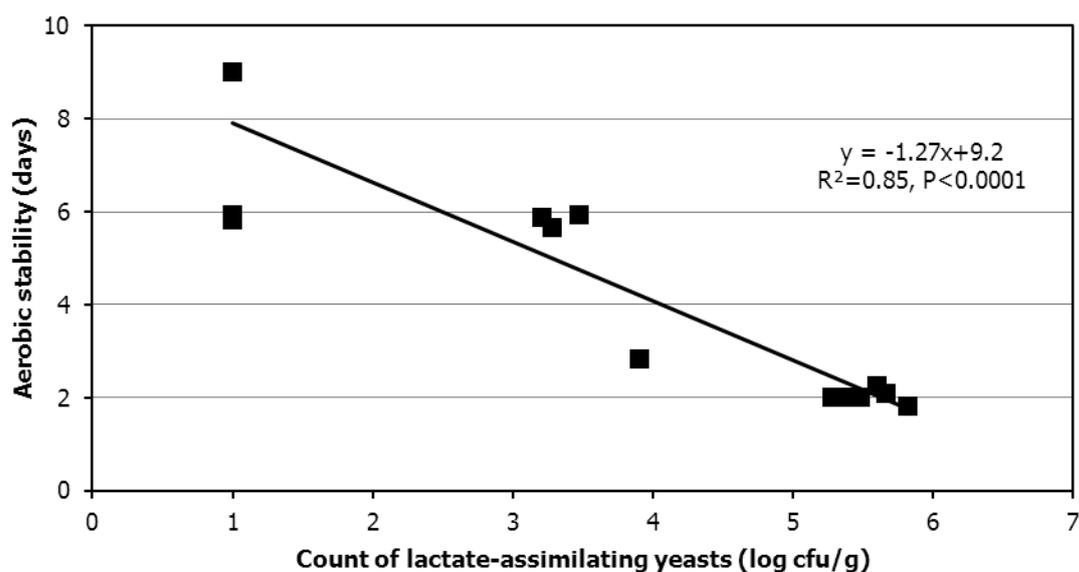


Figure 1: Relationship between the count of lactate-assimilating yeasts and aerobic stability

Discussion

Despite a high sugar concentration in the wilted herbage, untreated green rye silages underwent butyric fermentation, which was accompanied by pronounced protein degradation as indicated by high ammonia-N content. This may be attributed to the low nitrate level of the crop which was less than the proposed threshold values of 0.5 g/kg DM by Weissbach and Honig (1996), and of 1 g/kg DM by Weiss (2001). Nitrate acts as natural clostridia inhibitor by being decomposed during the initial stages of fermentation to form nitrite, and NO_x gases (Spoelstra 1983). The slow acidification rate in untreated silages was likely caused by a low number of epiphytic LAB, although this parameter was not measured in the present study. This probably enabled clostridia to thrive during the initial stages of fermentation. According to Weissbach and Honig (1996) the risk of clostridial fermentations increases if the nitrate level is below 0.5 g/kg DM and LAB count does not exceed 1×10^5 cfu/g. The lack of efficient LAB could be compensated by the application of all inoculants, which resulted in lower pH after 3 days of fermentation rate and no butyric acid. These results agree with observations by Pobednov et al. (1997) who found positive effects of using KOFASIL LAC on acidification rate and fermentation quality in a study using 21 different crops. The observed effect of inoculation was more pronounced in wilted forages than in direct-cut herbage, indicating the high osmotolerance of the strains used in the product. With the exception of treatment KS, all inoculants also decreased ammonia-N which supports earlier observations by Honig et al. (1996) and Kramer et al. (2012). Inoculants only containing *L. buchneri* do not reduce ammonia-N concentration when compared with untreated grass silages, and occasionally an increase can be observed (Driehuis et al. 2001).

Regardless of the product, the use of the homofermentative *L. plantarum* strains did alter fermentation pattern after 91 days of fermentation towards lower acetic acid and ethanol concentrations, but with no effect on lactic acid concentration, which may be explained by the high level (about 11% of DM) already determined in untreated silages.

The sole use of *L. buchneri* in KS significantly affected the fermentation profile as reflected by the least lactic acid as well the highest acetic acid and 1,2PD concentrations. This typical fermentation pattern of *L. buchneri* has been described earlier by Oude Elferink et al. (2001). Concentrations of acetic acids and 1,2PD for the combination product KDUO were in between those of LAB_{ho} and KS silages, which confirm findings by Driehuis et al (2001).

The high initial sugar concentration was almost totally depleted at the end of fermentation in CON and KS silages. On the contrary, the application of LAB_{ho} inoculants and of the combination with the heterofermentative strain resulted in high residual sugar contents. This can be associated to the more efficient conversion of sugar into lactic acid, which results in a more rapid and significant drop in pH. Thus, fermentation ceases earlier, thereby saving sugar (Driehuis et al. 2001).

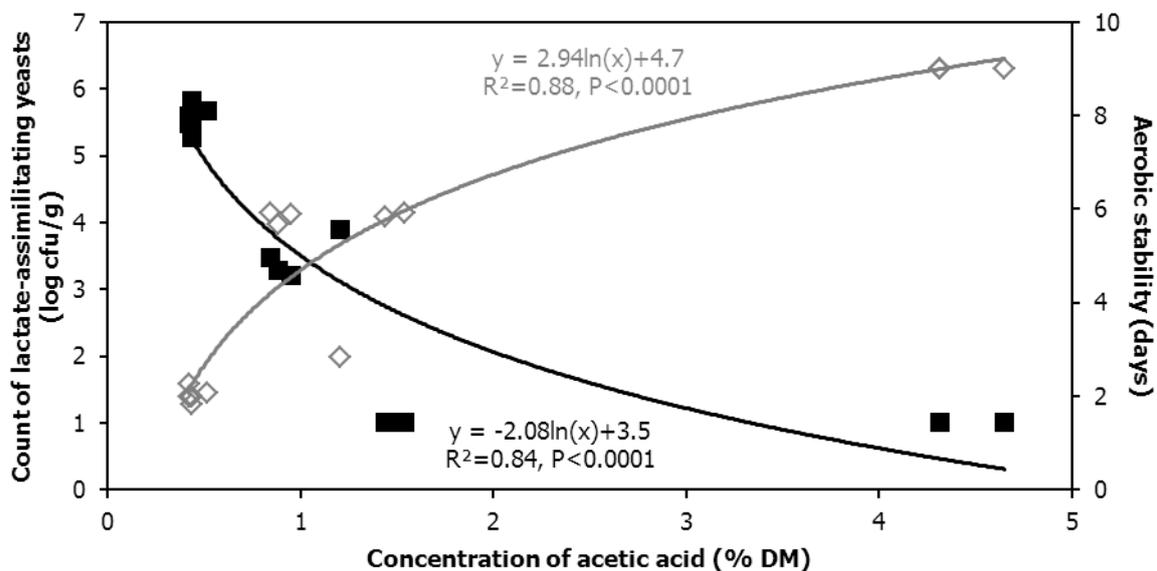


Figure 2: Relationship between the concentration of acetic acid and the count of lactate-assimilating yeasts (■) and aerobic stability (◇), respectively

Treatment with LAB_{ho} strains resulted in highest LAY numbers upon the start of aerobic exposure of all treatments, whereas fungal counts were between CON and KS in the KDUO. This finding was reflected by data on ASTA. This is in agreement with observations by Driehuis et al. (2001), who also found that the combined application of LAB_{ho} and LAB_{he} strains can alleviate the detrimental effect of sole LAB_{ho} on aerobic stability. Moreover, a recent study on the effects of KLAC, KDUO and KS on fermentation pattern and ASTA confirms the presented results (Nadeau, pers. comm.). Untreated wilted grass silage (35% DM) produced in big round bales showed excellent ASTA (14 days) due to high acetic acid content, whereas the use of KLAC reduced acetic acid level, thereby dramatically worsening ASTA to 2.3 days. This detrimental effect could be alleviated by KDUO, in which the silages were stable for 6.3 days (P<0.0001).

Conclusion

Different types of inoculants affected silage quality traits according to their expected mode of action. The tested combination product KOFASIL DUO was superior to all other treatments in enhancing fermentation quality and simultaneously maintaining sufficient aerobic stability of green rye silages.

References

- Auerbach H., Oldenburg, E. and Pahlow G. (2000): Prevention of *Penicillium roqueforti*-associated aerobic deterioration of maize silage by various additives. *Mycotoxin Res.* 16A(2), 146-149.
- Danner H., Holzer M., Mayrhuber E. and Braun R. (2003): Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environm. Microbiol.* 69(1), 562-567.
- Driehuis F., Oude Elferink S.J.W.H and Van Wikselaar P. G. (2001): Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass Forage Sci.* 56, 330-343.
- Honig H. (1990): Evaluation of aerobic stability. *Grass and Forage Reports Special issue 3*, 76-82.
- Honig H. and Thaysen J. (2002): 10 years testing of silage additives by dlG – a comprehensive data evaluation. In: *Conf. Proc. of the XIIIth Int. Silage Conf., Auchincruive, Scotland, September 11-13*, 232-233.
- Honig H., Schild G.J., Weissbach F. and Daenicke R. (1996): Effect of a combination of lactic acid bacteria with formate and benzoate as a silage additive for grass under farm conditions. In: *Proc. XIth Int. Silage Conf., Aberystwyth, Wales, September 8-11*. pp. 54-55.
- Jonsson A. and Pahlow G. (1984): Systematic classification and biochemical characterization of yeasts growing in grass silage inoculated with *Lactobacillus* cultures. *Anim. Res. Developm.* 20, 7-22.
- Kleinschmidt D.H. and Kung L. (2006): A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and the aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *J. Dairy Sci.* 89(19), 4005-4013.
- Kramer E., Leberl P. and Kalzendorf C. (2012): Effect of a mixture of lactic acid bacteria on the amount of protein degradation in grass silages of different raw materials. In: *XVI Int. Silage Conf., Hämeenlinna, Finland, July 2-4*, 260-261.
- Lengerken J. and Zimmermann K. (1991): *Handbuch Futtermittelprüfung*. Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin, 1. Auflage.
- Muck R.E. (2004): Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. *Transactions ASAE* 47(4), 1011-1016.
- Oude Elferink S.J.W.H., Krooneman J., Gottschal J.C., Spoelstra S.F., Faber F. and Driehuis F. (2001): Anaerobic degradation of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environm. Microbiol.* 67(1), 125-132.
- Pitt R.E., Muck R.E. and Pickering N.B. (1991): A model of aerobic fungal growth in silage. 2. Aerobic stability. *Grass Forage Sci.* 46, 301-312.
- Pobednov J., Weissbach F. and Pahlow G. (1997): Über den Effekt von Milchsäurebakterien-Präparaten auf die Säuerungsgeschwindigkeit und die Gärqualität von Welksilage. *Landbauforschung Völkenrode* 3, 97-102.
- Schmidt R.J. and Kung L. (2010): The effects of *Lactobacillus buchneri* with or without homolactic bacterium on the fermentation and aerobic stability of corn silages made at different locations. *J. Dairy Sci.* 93(4), 1616-1624.
- Spoelstra S.F. (1983): Inhibition of clostridial growth by nitrate during the early phase of silage fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 34, 145-152.
- VDLUFA (2011): *VDLUFA methodology, Vol. III, 1997-2011*, VDLUFA Verlag Darmstadt.
- Weiss K. (2001): *Gärungsverlauf und Gärqualität von Silagen aus nitratarmem Grünfütter*. Doctoral thesis. Humboldt Universität Berlin.
- Weissbach F. (2005): A simple method for the correction of fermentation losses measured in laboratory silos. In: *Proc. XIVth Int. Silage Conf., July 2005, Belfast, Northern Ireland*, 278.
- Weissbach F. and Honig H. (1996): Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau. *Landbauforschung Völkenrode* 1, 10-17.
- Weissbach F. and Strubelt C. (2008): Correcting the dry matter content of grass silages as a substrate for biogas production. *Landtechnik* 63(4), 210-211a.

Wolthusen E., Weissbach F. and Derno M. (1989): Fermentation acid content and aerobic stability of silages. In: Proc. Int. Symp. Production, Evaluation and Feeding of Silage, June 16-19, Rostock, Germany. Academy Agric. Sci. of the GDR, 123-130.

Corresponding author

Dr. Horst Auerbach
Säurestrasse 1 / Areal E, D-06749 Bitterfeld-Wolfen
E-mail: horst.auerbach@addcon.com

**„Verluste vermeiden,
Qualität sichern!“**



ADDCON's EU-Zulassung für KOFA GRAIN -pH 5- als Konservierungsstoff für Feuchtgetreide ist erneut bestätigt und um den Bereich „Futter“ erweitert worden.

Profis vertrauen seit Jahren auf KOFA GRAIN -pH 5-. Die patentierte Formel schützt vor Verlusten durch Schadorganismen und sichert gleichzeitig die Qualität von Getreide und Futter. KOFA GRAIN -pH 5- ist sicher in der Anwendung und effektiv in der Wirkung.

ADDCON EUROPE GmbH

Kaiserstraße 1a • 53113 Bonn • Deutschland

Tel./Phone: +49-228-91910-0; Fax: +49-228-91910-60

E-Mail/Web: info@addcon.com • www.addcon.com

The effect of inoculant addition on the qualitative parameters of TMR for roe deer

**P. Dolezal¹, J. Hrbek¹, V. Mlejnkova¹, L. Kalhotka¹, K. Szwedziak²,
M. Tukiendorf² and L. Zeman¹**

¹ Mendel University in Brno, CZ

² University of Technology Opole, PL

Introduction

The system of ensiling total mixed ration (TMR) for game is meant specifically for winter and transition periods and is not suitable for the summer period and for a combination with pasture high in nutrients. In this context, the TMR system is good for both open hunting grounds and game preserves. The use of self-service facilities provides for the *ad libitum* complementary feeding of wildlife. Advantages of using the TMR system in feeding animals are well known and were described by many authors (Kudrna et al., 2009; 1998; Dolezal 2004 a.o.). The significance of TMR completeness consists especially in feeding the animals with nutrients in accordance with their actual needs. The ration composition can be kept stable to stabilize the ruminal environment of animals, which is a decisive aspect for a perfect utilization of fodder and activity of microorganisms in the rumen. A positive factor is also a problem-free transfer of game to the spring pasture. Health-supporting nutritional benefits of TMR are known and were publicized in a number of studies (Mudrik et al., 2006; Kudrna et al., 1998; Dolezal et al., 2010 a.o.). An important factor of TMR is also its structure, which has to correspond with the physiological requirements of ruminal digestion of animals and at the same time to prevent health risks and picking of more tasteful components from TMR. Very important in preparing TMR is quality, time and sequence of fodders used.

The proportion of individual feed components in TMR differs in dependence on the type and amount of available fodders. The formula for a resulting TMR must be as near to the nutritional requirements of the given game species as possible and should reach dry matter content in the resulting mixture ranging from 45-55%. Nutritional parameters recommended for 1kg DM in TMR derived from works published by Vach et al. (1997) and Havranek (2002) are 150g of fibre, 5.5 MJ NEL and 100g N-substances and 220g of fibre, 4 MJ NEL and 90g of N-substances per 1kg DM in the ration for roe deer and red deer, respectively.

Material and methods

The objective of our work was to study under exact laboratory conditions the effect of a biological inoculant on the course of fermentation process in preparing TMR for roe deer and to evaluate not only the chemical composition but also the *in vitro* digestibility of dry matter (DM) and organic matter (OM). TMR for roe deer was prepared under semi-industrial conditions at a composition presented in Table 1. Following a perfect stirring in a mobile mixing wagon the experimental variant was treated with a biological ensiling additive containing bacteria of lactic fermentation - *Lactobacillus plantarum* ($5 \cdot 10^{10}$), *Enterococcus faecium* ($6.25 \cdot 10^{10}$) and *Lactobacillus buchneri* ($1.25 \cdot 10^{10}$). The inoculant was dosed at an amount of $2 \text{ g} \cdot \text{t}^{-1}$ directly into the mobile mixing wagon. Both variants were subsequently ensiled into experimental laboratory ensiling containers providing the anaerobic environment and steady load. The material was compressed by using a ramming press.

Table 1: TMR composition

Component	Content %
Corn silage	30.0
Clover hay	2.7
Meadow hay	6.2
Apple pomace	12.4
Carrots	11.1
Brewers' grains	12.7
Oats	10.9
Wheat	4.6
Barley	5.2
Soybean meal	4.0
Premix	0.3
Σ	100

The attention was focused on the qualitative indicators of the fermentation process (Hartman 1984), chemical composition and nutritive value of TMR (AOAC 1980). The content of crude proteins (N*6.25) was ascertained by using the method according to Kjeldahl and the Foss Kjeltec Model 2400. The content of fat was determined by the Soxhlet extraction method on the VELP SER 148/6 Solvent Extractor. The content of crude fibre was established by the Heneberg-Stohman's method (Kacerovsky et al., 1990). The content of ADF fraction in TMR was determined by using a one-stage hydrolysis in the solution of H₂SO₄ and cetyltrimethylammonia bromide on the instrument Ankom 220 Fiber Analyzer at a temperature of 100 °C under continual stirring for a period of 60 minutes. The content of ADF was calculated according to formula. The content of NDF fraction in TMR was established by means of hydrolysis in the solution of sodium laurylsulphate with pH modified according to Trinacty et al. (2009) on the instrument Ankom 220 Fiber Analyzer at a temperature of 100 °C under continual stirring for 75 minutes. The *in vitro* OM digestibility was determined by using the *Daisy incubator* method (Trinacty and Dolezal, 2006). The structure of total mixed rations was assessed on the Pen State fodder particle size separators in line with recommended procedures.

Results and discussion

The fermentation process in both TMR variants (Table 2 and Figure 1) features a very high fodder quality. Proteolysis (DPS) is below 6%, which indicates very low protein losses by the fermentation process itself as well as by storage. A sufficient stability is demonstrated by the low pH value (<4) and by the high titratable acidity of water extract (AWE) and is in line with not only the content of lactic acid (LA) but also with the total content of fermentation acids. The addition of inoculant to the ensiled TMR resulted in the increased contents of lactic acid and total acids, which corroborates the former findings of other authors from the conservation of fodders (Weissbach 1999; Rooke et al., 1990; Pflaum et al., 1999 a.o.). Butyric acid was not found in the ensiled TMR. An important technological measure to boost the development of lactic fermentation bacteria in the ensiled matter is the perfect cutting of hay and maize for silage. The cutting is necessary not only to achieve a good structure but also a favourable ensiling capacity. With respect to the specified group of future consumers, the structure of the resulting TMR was paid a special attention. Biological conservation additives can increase the energy value of silages by about 5% as they reduce losses due to fermentation even in fodder crops that are easy to ensile and this is why they can be successfully used also to reduce losses due to the secondary fermentation.

The chemical composition and nutritive value of TMR are presented in Table 3. The availability of individual nutrients in TMR for animals has to do with the energy value or – in other words – with the

TMR composition. This is why the TMR was in the first step analyzed by using the method of *in vitro* DM and OM digestibility (Oba and Putnam, 2007). NDF and ADF are being currently analyzed. The detected data suggest that the digestibility of the two traits was higher than 85% thanks to the selection of available feeding raw materials. References (e.g. Oba and Allen, 2005; Hoffmann et al., 2006 and others) as well as our results show that there is a link between the content of fibre and OM digestibility. The correlation analysis can be used to demonstrate that the dependence is directly proportional.

Table 2: Fermentation process

	The original mass			in DM							
	DPS	pH	AWE	NH ₃	LA	AA	Σ Acids	LA/AA	%LA of Σ acids	Ethanol	
	%		mg KOH	%	%	%	%	%	%	%	
Control	\bar{x}	5,34	3,80	2287	0,15	9,72	1,77	11,48	5,51	84,61	1,90
	sd	0,000	0,005	62,1	0,000	0,305	0,033	0,276	0,270	0,633	0,059
Inoculant	\bar{x}	5,70	3,81	2389	0,15	10,00	1,81	11,81	5,53	84,65	2,09
	sd	0,000	0,005	64,0	0,000	0,370	0,095	0,416	0,283	0,667	0,041

Table 3: Chemical composition and nutritive value

	Ash	CP	Fat	Fiber	ADF	NDF	BE	DMD	OMD	
	% in DM						MJ	%		
Control	\bar{x}	5,53	14,14	8,09	17,69	22,21	34,15	18,27	87,98	86,46
	sd	0,012	0,047	0,630	0,468	0,563	0,487	0,048	1,356	1,575
Inoculant	\bar{x}	5,72	13,87	9,78	17,47	22,25	34,00	18,25	85,06	84,63
	sd	0,108	0,085	0,526	0,429	0,562	0,823	0,136	1,110	2,882

The conserved TMR was analyzed also on the Pen State feed separator to establish the percentage of individual particles. The analysis (Figure 2) showed that the structure of the prepared TMR was satisfactory since the individual proportions of particle fractions, namely fractions on sieves 2 and 3 were meeting requirements mentioned by other authors (Kudrna 1998; Dolezal 2004; Mudrik et al., 2006 and others). The monitoring of TMR intake by roe deer showed that the game did not ingest too large particles (fodder proportion on sieve 1) and these particles were always left over. In this respect it should be pointed out that the roe deer game has body weight as well as constitution lower than cattle (and a smaller size and volume of the alimentary tract) and the share of fodder left on sieve 1 of the particle size separator should be lower than the range recommended for cattle (6-10%).

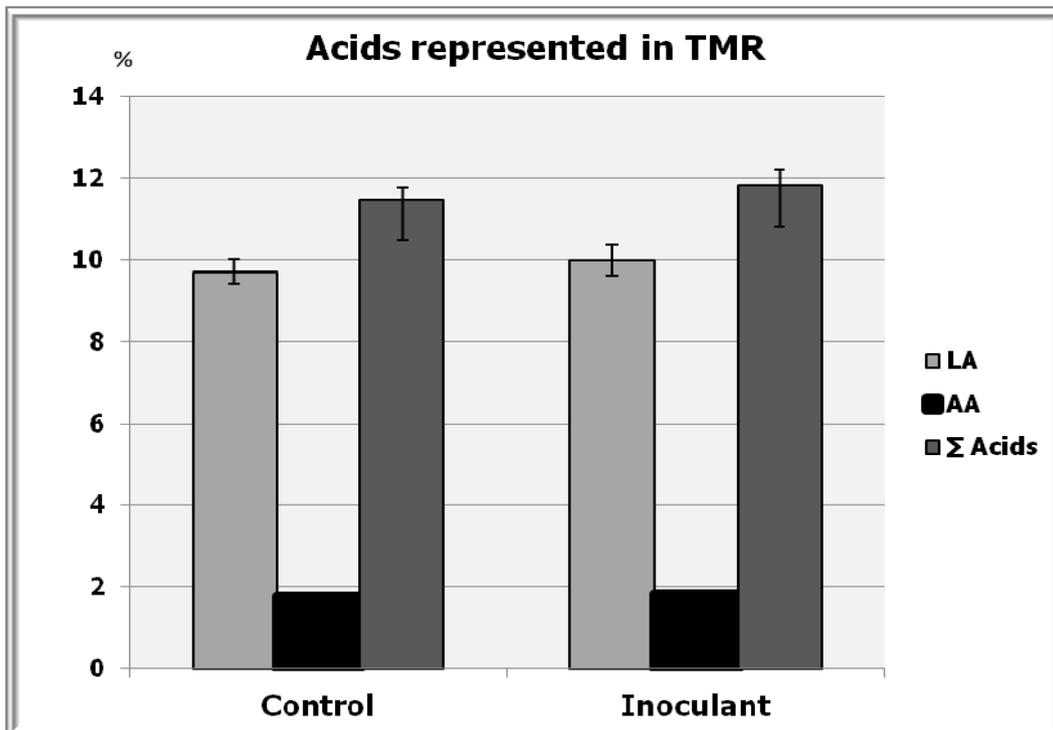


Figure 1: Proportions of fermentation acids in TMR

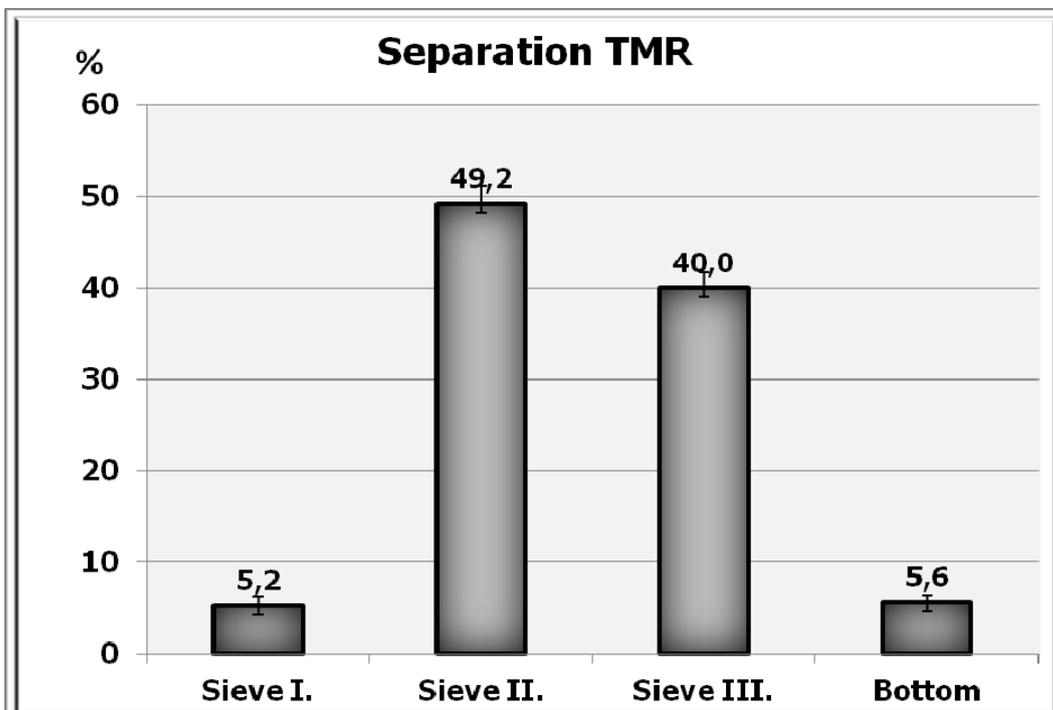


Figure 2: TMR particle separation on the Pen State separators

Acknowledgement

The study was supported from the Research Programme No. MSM6215648905 "Biological and technological aspects of the sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change" funded by the Ministry of Education, youth and sports of the Czech Republic and from the project IGA 52/2012.

References

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (1980): Official Methods of Analysis. 13th ed., AOAC, Washington, DC. 1018 pp.
- Dolezal, P.: Směsná krmná dávka ve výživě dojnic. Krmivářství 6 (2004) p. 18-22.
- Hoffmann, P. C., Lundberg, K. M., Bauman, L. M. et al. (2006): NDF digestibility: Reference values for forages, byproducts and total mixed rations. Focus on Forage. Vol. 5:No. 17.
- Kacerovský, O., Babička, L., Bíro, D. et al., 1990): Zkoušení a posuzování krmiv. SZN Praha, 213 pp., ISBN 80-209-0098-5
- Kudrna, V.: Základy přípravy a zkrmování kompletních směsných krmných dávek (SKD). (2009) VÚŽV Praha Uhřetěves.
- Havránek, F., Bukovjan, K., Pintř, J.: Srnčí zvěř. MZE (2002).
- Oba, M., Putnam, D.G. (2007): *In vitro* digestibility of forages. In: Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conference. Ft. Wayne, in, p. 81-91.
- Pflaum, J. et al. (1999): The use of a chemical and biological additive to improve stability. In: *The 9th International Symposium on Forage Conservation*. Nitra: 118–119.
- Pozdíšek, J., Mikyska, F., Loučka, R. a Bjelka, M. (2008): Metodická příručka pro chovatele k výrobě konzervovaných krmiv z víceletých píceň a trvalých travních porostů. VUCHS Rapotín, 1st Edition, p. 38.
- Rooke, J. A., Borman, A. J., Armstrong, D. G. (1990): The effect of inoculation with *Lactobacillus plantarum* on fermentation in laboratory silos of herbage low in water-soluble carbohydrate. *Grass and Forage Science*, 45/2, 143–152.
- Trinactý, J. and Dolezal, P. (2006): Prováděcí metodika: Stanovení stravitelnosti sušiny a organické hmoty pepsin-celulázovou metodou využitím *Daisy incubatoru*. In. Nová technologie aplikace aminokyselin u dojnic a aktualizace systému PDI v ČR. (Project NAZV 1B 44037).
- Trinactý, J., Richter, M., Krizova, L. (2009): Hodnocení energie krmiv pro dojnice dle NRC (2001). p. 41.
- Weissbach, F. (1999): Strategien im Maisbau–Augen auf bei der neuen Reifeinstufung. *Zeitschrift Lohnunternehmen*, 1, 3.

Corresponding author

Dr. Petr Dolezal
Department of Animal Nutrition and Forage Production
Mendel University in Brno
Zemedelska 1-3, 613 00 Brno
E-mail: dolezal@mendelu.cz

Biogenic amines and D(-) lactic acid formation in solid state fermented with certain lactobacillus lupine products

Elena Bartkiene¹, Grazina Juodeikiene², Audrius Maruska³,
Ona Ragazinskiene⁴, Paulius Matusевичius¹ and Erika Skabeikyte¹

¹ Lithuanian University of Health Sciences, LT

² Kaunas University of Technology, LT

³ Vytautas Magnus University, LT

⁴ Kaunas Botanical Garden, LT

Introduction

Fermentation processes may be divided into two systems: submerged fermentation (SmF), which is based on the microorganisms cultivation in a liquid medium containing nutrients, and solidstate fermentation (SSF), which consists of the microbial growth and product formation on solid particles in the absence (or near absence) of water; however, substrate contains the sufficient moisture to allow the microorganism growth and metabolism (Pandey, 2003). Lactic acid bacteria (LAB) are of particular interest in fermented products, because they produce lactic acid as a common metabolic end metabolite. This compound contributes to the prevention of the outgrowth of pathogenic and spoilage microorganisms and thereby prolongs the shelf life of fermented products. But lactic acid exists in two optically active stereo-isomers, the L(+) and the D(-). However, since elevated levels of D(-) lactic acid is harmful to mammals, L(+) lactic acid is the preferred isomer in feed as mammals have only L-lactate dehydrogenase that metabolizes L(+) lactic acid. Another important feed safety factor are biogenic amines (BA), especially when for fermentation used raw material is rich in protein (lupine).

The aim of this research was to study the effects of SSF with *L. sakei*, *P. pentosaceus* and *P. acidilactici* on L-(+) and D(-) lactic acid and BA formation in fermented lupine products.

Materials and methods

Lupinus angustifolius L. seeds No.1672, No.1719 and No.1700 with low alkaloid content (<0.1%) were obtained from the Lithuanian Institute of Agriculture (Voke, Lithuania) in 2011. The *Lactobacillus sakei* KTU05-6, *Pediococcus acidilactici* KTU05-07 and *Pediococcus pentosaceus* KTU05-8, strains previously isolated from spontaneous rye sourdough (Digaitiene et al., 2005) were cultured at 25-35 °C temperatures for 48 h in MRS broth (CM0359, Oxoid Ltd, Hampshire, UK) with the addition of 40 mmol/l fructose and 20 mmol/l maltose prior to be used. Lupine wholemeal, tap water, and LAB cell suspension (5 g), containing of 8.9 log₁₀ colony-forming units (cfu) per mL of the above individual LAB strains were used to prepare fermented lupine product following the fermentation at 25-35 °C temperatures for 48 h. Final colony number in the fermented lupine was on average of 7.28 log₁₀ cfu/g. Final moisture of solid state fermented product was 47 %.

L(+)/D(-) lactic acid concentrations in fermented lupine samples were determined by an enzyme test kit (R-biopharm AG - Roche, Darmstadt, Germany), as reported elsewhere (Yun et al., 2003).

Extraction of samples and determination of BA were carried out according to the procedures developed by Ben-Gigirey et al. (Ben-Gigirey et al., 1999) and are described by Bartkiene et al. (Bartkiene et al., 2011).

Results and discussion

The lowest concentration of D(-) lactic acid isomer was in fermented with *P. pentosaceus* lupine (in lupine No. 1672 – 3.81 ±0.12 g/100 g; in lupine No. 1719 – 2.14 ±0.16 g/100 g; in lupine No. 1700 – 3.57 ±0.22 g/100 g) (Figure 1). The biggest concentration of isomer D(-) was found in fermented with *L. sakei* lupine (in lupine No. 1672 – 6.02 ±0.17 g/100 g; in lupine No. 1719 – 5.98 ±0.27 g/100 g; in lupine No. 1700 – 6.54 ±0.12 g/100 g). Results show that in experiment used LAB produce less D(-) isomer than L(+). The biggest concentration of isomer L(+) was found in fermented with *L. sakei* lupine (in lupine No. 1672 – 11.20 ±0.34 g/100 g; in lupine No. 1719 – 10.6 ±0.31 g/100 g; in lupine No. 1700 – 10.59 ±1.17 g/100 g). L(+) lactic acid isomer concentrations in with *P. pentosaceus* and *P. acidilactici* fermented lupine were similar.

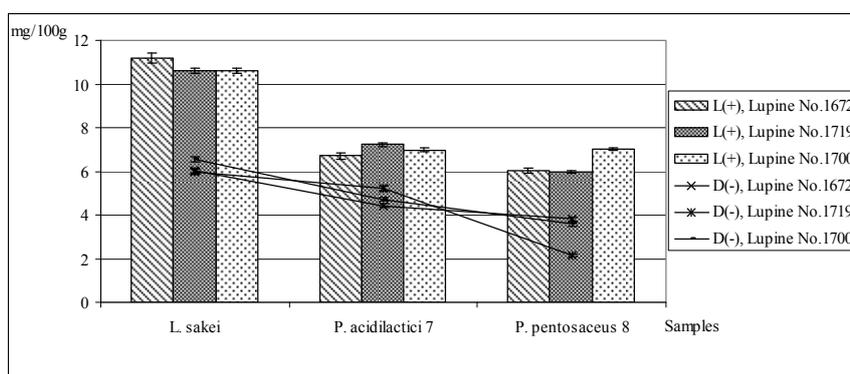


Figure 1: D(-)/L(+) lactic acid isomers formation in SSF lupine sourdough made with different LAB

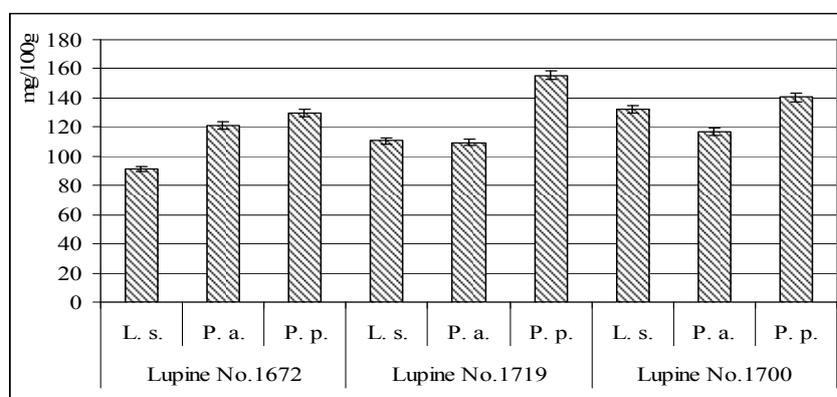


Figure 2: Total BA levels in SSF lupine made with different LAB

The type of isomer formed is species or even genus specific and since Orla-Jensen (1919) has been used as a taxonomic marker. D(-)-lactate is not readily utilized by man and animals; it has therefore been considered as the non-physiological one of the two isomers (Giesecke, Fabritius & Van Wallenberg, 1981). The FAO/WHO-experts (1967) suggested limiting the daily intake of D(-)-lactate to 100 mg/kg body weight and attempts to favour the L(+) isomer content in fermented food are in progress (Kunath & Kandler, 1980). The D(-)-lactate concentrations of all in experiment analysed SSF lupine products were far below those levels causing a health risk.

Total BA levels in SSF lupine sourdough made with different LAB are shown in Figure 2. The highest total BA levels were found in lupine fermented with *P. pentosaceus* (lupine No. 1672 – 130.0 mg/kg d.

m.; lupine No. 1719 – 155.5 mg/kg d. m.; lupine No. 1700 – 140.4 mg/kg d. m.), while the products fermented with *L. sakei* and *P. acidilactici* contained lower amounts (lupine No. 1672 by 29.5 and 6.8 %; lupine No. 1719 by 28.8 and 29.7 %; lupine No. 1700 by 5.9 and 16.7 %, respectively; Fig. 2).

However, not all amines are of equal toxicity, consequently the levels of histamine and tyramine are of concern. Tyramine is usually the major amine found in fermented products (Saaïd et al., 2009). Histamine and tyramine intake should be in the range of 50–100 and 100–800 mg/kg, respectively; over 1080 mg/kg tyramine becomes toxic (Shalaby, 1996). Histamine intake higher than 100 mg may cause slight or intermediate poisoning (Parente et al., 2001). The BA concentrations of all analysed fermented lupine products were far below those levels causing a health risk.

Conclusion

In conclusion we could say that the D(-)-lactate and biogenic amines concentrations of all fermented products were far below those levels causing a health risk.

Acknowledgements

This work is part of action BIOFITAS of National Research Program "Healthy and Safe Food", supported by Research Council of Lithuania.

References

- Bartkiene E., Juodeikiene G., & Vidmantienė D. Nutritional quality of fermented defatted soya and flaxseed flours and their effect on texture and sensory characteristics of wheat sourdough bread. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2011; Early Online: 1–8.
- Ben-Gigirey, B., De Sousa J.M.V.B., Villa T.G., & Barros-Velazquez J. (1999). Histamine and cadaverine production by bacteria isolated from fresh and frozen albacore (*Thunnus alalunga*). *Journal of Food Protection*, 62, 933–939.
- Digaitienė, A., Hansen, A., Juodeikiene, G., & Josephsen, J. (2005). Microbial population in Lithuanian spontaneous rye sourdoughs. *Ekologija i Technika*, 5, 193–198.
- FAO Nutrition Meetings. Report Series No. 40A,B,C. WHO/Food Add./67.29. Tenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, FAO Nutrition Meetings Report Series, 1967, in press functional and nutraceutical ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 624–633.
- Giesecke, D., Fabritius, A., & Van Wallenberg, P. (1981). A quantitative study on the metabolism on D(-) lactic acid in the rat and the rabbit. *Comparative Physiology and Biochemistry*, 69, 85–89.
- Yun, J.-S., Wee, Y.-J., & Ryu, H.-W. (2003). Production of optically pure L(+)- lactic acid from various carbohydrates by batch fermentation of *Enterococcus faecalis* RKY1. *Enzyme and Microbial Technology*, 33, 416–423.
- Kunath, P. & Kandler, O. (1980). Der Gehalt an L(+)- und D(-)-Milchsäure in Joghurtprodukten. *Milchwissenschaft*, 35, 470–473.
- Orla-Jensen, S. (1919). *The Lactic Acid Bacteria*. Anhr. Fred. Høst and Son, Copenhagen
- Pandey, A. (2003). Solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13, 81–4.
- Parente, E., Martuscelli, M., Gardini, F., Grieco, S., Crudele, M.A., & Suzzi, G. (2001). Evolution of microbial populations and biogenic amine production in dry sausages produced in Southern Italy. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 882–891.
- Saaïd, B., Saad, A.S.M.A., Saleh, M.I., Basheer, C. & Lee, H.K. (2009). In situ derivatization hollow fibre liquid-phase microextraction for the determination of biogenic amines in food samples. *Journal of Chromatography A*, 1216, 5165–5170.
- Shalaby, A.R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29, 675–690.

Coresponding author

Elena Bartkiene
Lithuanian University of Health Sciences
Tilzes str. 18, Kaunas LT-4781
E-mail: elena.bartkiene@lva.lt



BIOMIN Research & Development

Turning science into sustainable solutions

Our strong in-house R&D and global cooperation with leading institutions form the basis by which innovative solutions are developed for our customers.



research.biomin.net

Naturally ahead

≡ Biomin[®] ≡

Influence of autolysed yeast derivatives on continuous rumen fermentation *in vitro*

Christian Stoiber, Anja Ganner, Christoph Reichel, Stephan Rose, Gerd Schatzmayr and Ilse Dohnal

BIOMIN Research Center, Tulln, AT

Introduction and objective

Yeast products have been utilized as feed additives for ruminants for decades and their beneficial effects are well known. Yet, the underlying mode(s) of action of yeast products are not fully understood. On the one hand, live yeast cultures are proposed to consume remaining oxygen in the rumen, which provides favorable growth conditions for strict anaerobic bacteria (Newbold *et al.*, 1996). On the other hand, fragments and ingredients of autolysed yeast cells may serve as nutritional source in the rumen and thereby support the growth of beneficial microbes (Oeztuerk *et al.*, 2005). A previous study showed that the autolysed yeast product Levabon® Rumen elevated the number of total anaerobic bacteria and the concentration of propionic acid *in vitro* (Stoiber *et al.*, 2012). However, this study was conducted using a simple batch fermentation system with several limitations. Main issue was a decrease of the pH value to 5.5 and below within 24 h of fermentation. Thus, a continuous fermentation system was developed to investigate the influence of Levabon® Rumen on ruminal fermentation over a longer time period. Parameters of interest were: progress of pH value and redox potential, concentrations of organic acids (propionic, acetic, butyric and lactic acid), total bacterial count, produced gas and dry matter disappearance.

Materials and methods

Rumen liquid and digesta were collected from freshly slaughtered bulls. Each reactor (n=8) of a multi-fermentation system (8-fold DASGIP Parallel Bioreactor System) was filled with 500 mL rumen liquid, 300 mL de-ionized water and 200 mL synthetic saliva (McDougall, 1947). Fresh feed, consisting of 50% chopped hay and 50% cereal nutrient medium (48% wheat, 30% maize, 20% soy, 0.6% sodium phosphate dibasic, 0.6% NaCl and 0.8% Voramin Bovi Mast mineral-supplement feed), was filled into nylon *in situ* bags and placed in the reactors. At the start of fermentation, one *in situ* bag was filled with rumen digesta. Fermentation was done under anaerobic conditions and a continuous flow of synthetic saliva (500 mL per day) for 14 days at 39 °C (7 days adaption phase, 7 days sampling phase). *In situ* bags with fresh feed were replaced every 24 hours. Four reactors were supplemented with Levabon® Rumen (150 mg per day), the remaining reactors served as control.

Produced gas was collected in gas bags and the concentration of CH₄ and CO₂ was determined using IR measurement. Fermentation broth was sampled once per day. The concentration of volatile fatty acids (propionic, acetic, butyric and lactic acid) in the fermentation broth was determined using HPLC-RID after Carrez precipitation. For determination of the total bacterial count, a flow cytometry method was developed. Progress of pH value and redox potential was recorded online using the Dasgip system software. Removed *in situ* bags were rinsed with tap water, treated with a methyl-cellulose solution and dried at 105 °C to determine dry matter disappearance. Statistical analysis of the results was done using SPSS v19 and one-way-ANOVA.

Results

Progress of pH value was not influenced by the autolysed yeast derivative Levabon[®] Rumen and remained stable at about 7.2. Redox potential was also not affected and remained stable at about -400 mV. Concentrations of organic acids are shown for the last 3 days of sampling phase (second week of fermentation) due to considerable fluctuations during adaption phase and the first days of sampling phase (Figure 1, acetic acid as an example).

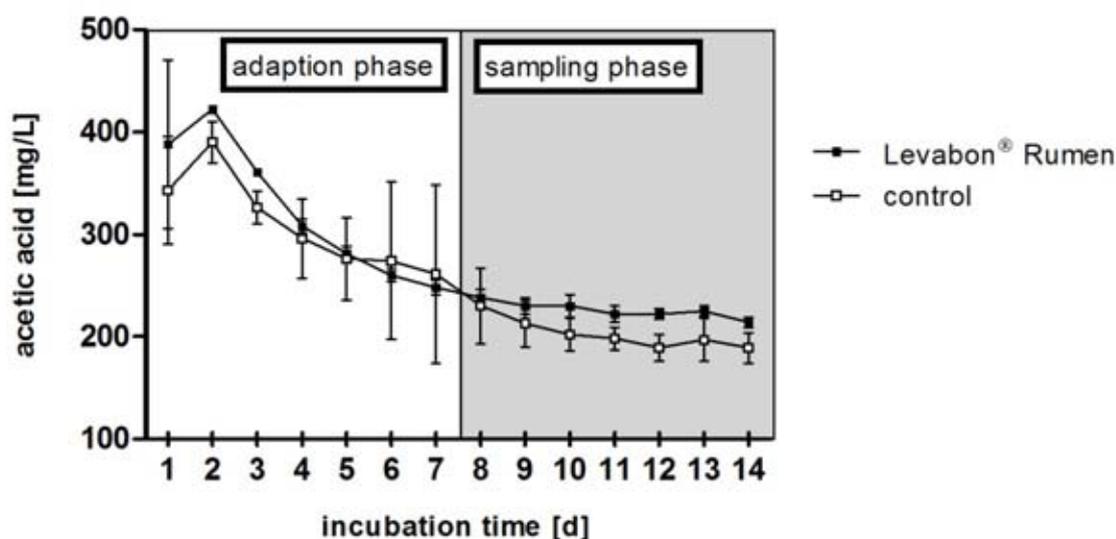


Figure 1: Acetic acid [mg/L] over 14 days of incubation (means of 4 reactors); errorbars represent standard deviations

Supplementation with Levabon[®] Rumen resulted in increased concentrations of acetic acid (Figure 2) and propionic acid (Figure 3). Furthermore, the propionic acid / acetic acid ratio was elevated (Figure 4). Butyric acid levels were not influenced by addition of the autolysed yeast derivative. Lactic acid concentration was below the detection limit (1 mg/L) in all samples.

Bacterial counts (determined by flow cytometry), dry matter disappearance and gas composition were not significantly different between yeast-supplemented and control reactors in this experiment.

Discussion

It has been shown that supplementation with Levabon[®] Rumen increases concentrations of propionic acid and acetic acid *in vitro*. Furthermore the propionic / acetic acid ratio was elevated. Volatile fatty acids, especially propionic acid, serve as major energy source for ruminants (Seymour *et al.*, 2005; Danfær *et al.*, 1995).

It was reported that an increased concentration of acetic acid elevates milk fat yield *in vivo* (Li *et al.*, 2006; Storry and Rook, 1965), because acetate serves as the main precursor for lipogenesis in adipose tissue (Ishler *et al.*, 1996). Furthermore, Ganner *et al.* (2012, unpublished data) observed that Levabon[®] Rumen increased total milk yield and milk fat yield *in vivo*, but the role of acetic acid was unclear as it was not assessed. However, these findings together with the results of our *in vitro* study suggest that Levabon[®] Rumen may increase milk fat yield by increasing the concentration of acetic acid in the rumen.

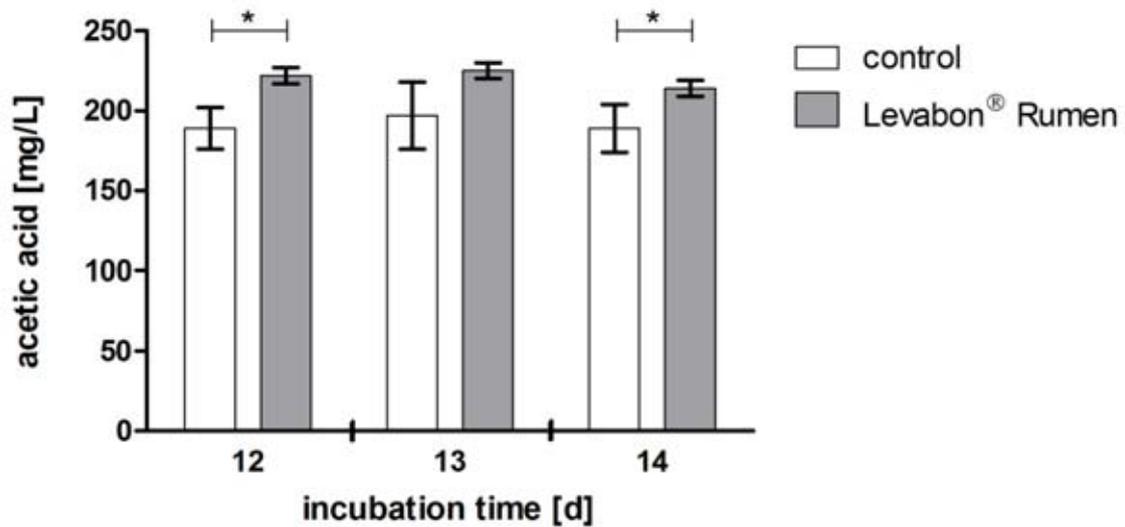


Figure 2: Acetic acid [mg/L] in the last three days of sampling phase (means of 4 reactors); * significant difference between Levabon® Rumen and control ($p < 0.05$); errorbars represent standard deviations

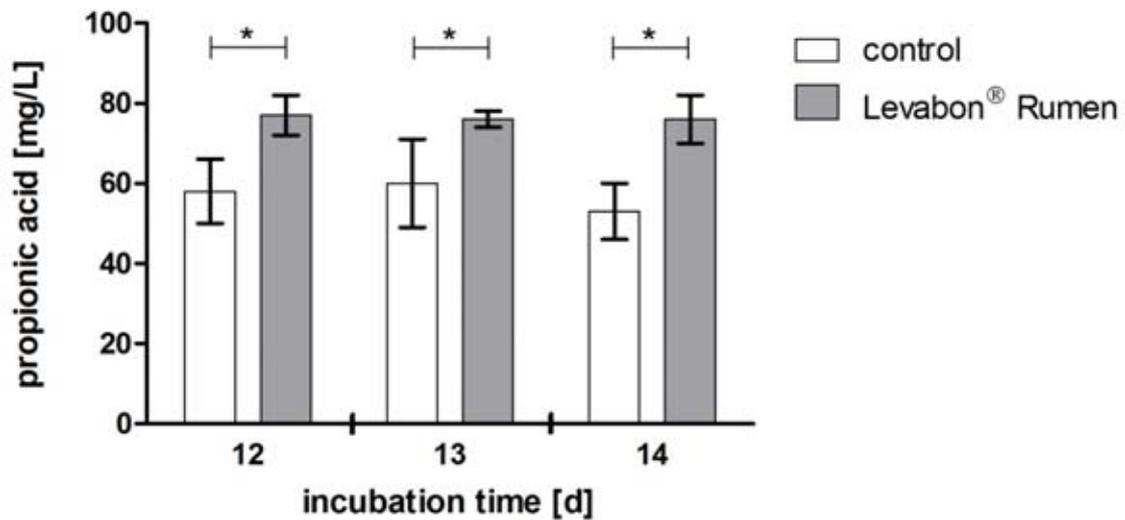


Figure 3: Propionic acid [mg/L] in the last three days of sampling phase (means of 4 reactors); * significant difference between Levabon® Rumen and control ($p < 0.05$); errorbars represent standard deviations

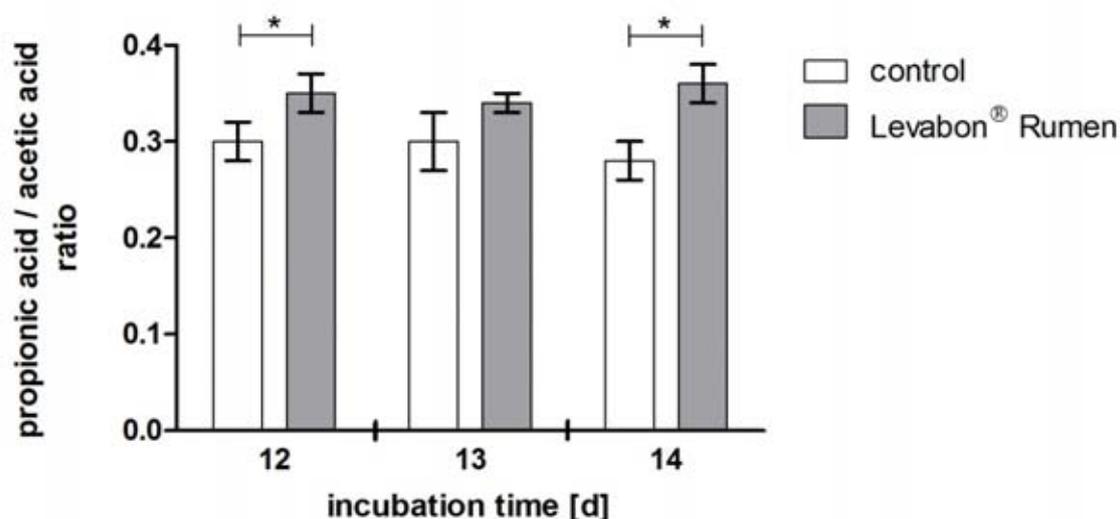


Figure 4: Propionic acid / acetic acid ratio in the last three days of sampling phase (means of 4 reactors); * significant difference between Levabon® Rumen and control ($p < 0.05$); errorbars represent standard deviations

Lactic acid concentration was below the detection limit (1 mg/L) in all samples. The main issue in our previous *in vitro* study (batch fermentations) was a high concentration of lactic acid causing a very low pH value (5.5 and below) after 24 h of fermentation. This means that instead of a healthy rumen, rather an acidotic state of the rumen was simulated. In a continuous rumen fermentation model, the pH remains stable due to dilution through synthetic saliva and removal of produced organic acids. This stable pH value prevents a reduction of the pH-sensitive lactate-consuming microbials as it is described during acidosis. Apart from that the amount of feed per fermentation volume was reduced compared to the batch fermentation system, whereby excessive growth of lactate producers like *Streptococcus bovis* is inhibited (Gasteiner, 2001).

It has been shown that Levabon® Rumen increases propionic and acetic acid concentrations *in vitro*, without altering bacterial count or pH value. Together, these findings indicate that supplementation with the autolysed yeast derivative enhances microbial activity and thereby contributes to stabilization of the microbial flora in the rumen. Experiments are planned to further characterize the impact of yeast derivatives on the rumen microbial system.

References

- Danfær, A., Tetens, V., Agergaard, N. (1995) Review and an experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants. *Comp. Biochem. Physiol.* 111, 201-210
- Gasteiner, J. (2001) Grundlagen zu den Verdauungsvorgängen beim Rind – Pansenphysiologie, Pansenazidose. 28. *Viehwirtschaftliche Fachtagung 2001*, 69-74
- Ishler, V., Heinrichs, J., Varga, G. (1996) From Feed to Milk: Understanding Rumen Function. Pennsylvania State University – College of Agricultural Sciences, Extension Circular 422
- Li, B., Wang, Z.H., Li, F.C., Lin, X.Y. (2006) Milk fat content was changed by ruminal infusion of mixed VFAs solutions with different acetate/propionate ratios in lactating goats. *Small Ruminant Research* 72, 11-17
- McDougall, E.I. (1947) Studies on Ruminant Saliva 1. The Composition and Output of Sheep's Saliva. *Biochemical Journal* 43, 99-109

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

Oeztuerk, 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

Seymour, W.M., Campbell, D.R., Johnson, Z.B. (2005) Relationships between rumen volatile fatty acid concentrations and milk production in dairy cows: a literature study. Animal Feed Science and Technology 119, 155-169

Stoiber, C., Dohnal, I., Ganner, A., Schatzmayr, G. (2012) Evaluierung des Einflusses von verschiedenen Hefeprodukten auf die Pansen-Fermentation *in vitro*. 11. BOKU-Symposium Tierernährung Tagungsband 2012, 234-238

Storry, J.E., Rook, J.A.F. (1965) Effect in the Cow of Intraruminal Infusions of Volatile Fatty Acids and of Lactic Acid on the Secretion of the Component Fatty Acids of the Milk Fat and on the Composition of Blood. Biochem. J. 96, 210-217

Corresponding author

Christian Stoiber, M.Sc.
BIOMIN Holding GmbH
BIOMIN Research Center
Technopark 1, A-3430 Tulln
E-mail: christian.stoiber@biomin.net

Multiple study analysis of the effect of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077) on milk and milk component production and feed efficiency

M.B. de Ondarza¹, C.J. Sniffen², L. Dussert³, E. Chevaux³, J. Sullivan³ and N. Walker³

¹ Paradox Nutrition, LLC, West Chazy, NY, US

² Fencrest, LLC, Holderness, NH, US

³ Lallemand Animal Nutrition, Milwaukee, WI, US

Introduction

Saccharomyces cerevisiae CNCM I-1077 (Lallemand) is a live yeast strain specifically selected to enhance rumen function. Many studies have shown SC I-1077 to enhance fiber digestion (Chaucheyras-Durand and Fonty, 2001). Guedes et al.(2007) found that SC I-1077 increased fiber digestion by 24% in low quality corn silages and 4.3% in high-quality corn silages. Continuous culture research showed SC I-1077 decreased ammonia, increased bacterial N production, and increased efficiency of microbial protein synthesis (Moya et al., 2007). SC I-1077 has also been shown to increase rumen pH and reduce rumen pH variation (Bach et al., 2007, Guedes et al., 2007, Moya et al., 2007).

Objective

To determine if live yeast (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077) affected milk production, milk component production, and feed efficiency across multiple experiments with varying diets.

Materials and methods

A dataset with diet information and production responses was compiled from fourteen research trials conducted internationally (160 observations representing 1615 cows) that tested the effect of dietary inclusion of live yeast (Levucell SC[®]) (0.5/g/d; 10×10^9 CFU/d).

Diet and feed analysis data for each study was entered into CPM Dairy 3.0.8 to estimate dietary nutrient parameters.

Mixed model analysis was conducted using JMP statistical software (SAS, Cary, NC).

Production responses were analyzed with the following variables included in the models: Control vs. Treatment, DMI (kg), DIM category (< 100 DIM vs. > 100 DIM), protein fractions A, B₁, B₂, B₃ and C (%DM), long-chain fatty acids (%DM), methionine (%mp), lysine (%mp), fermentable NDF (%DM), fermentable starch (%DM) and fermentable soluble fiber (%DM).

Number of cows per treatment was included as a weighting factor and experiment was included in the models as a random effect.

Production and Diet Characteristics of Experiments

Table 1: Diet composition

	Mean	SD	Min.	Max.
Milk (kg)	31.56	6.45	15.70	43.18
Milk Fat (%)	3.75	0.34	2.76	4.50
Milk True Protein (%)	3.02	0.15	2.71	3.47
DM Intake (kg)	19.22	3.67	11.01	27.20
CP (%DM)	17.32	1.93	13.90	22.20
Soluble CP (%CP)	34.13	7.81	20.94	47.56
Ether Extract (%DM)	4.54	1.30	3.10	6.50
NDF (%DM)	34.91	5.04	26.80	42.40
Sugar (%DM)	5.46	2.33	3.30	10.80
Starch (%DM)	22.82	8.39	3.40	36.50

Results

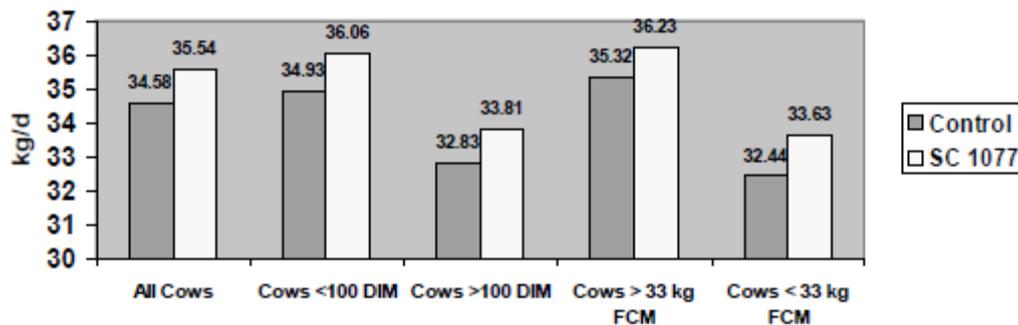


Figure 1: 3.5% fat-corrected milk



Figure 2: *Saccharomyces cerevisiae*

Milk Components

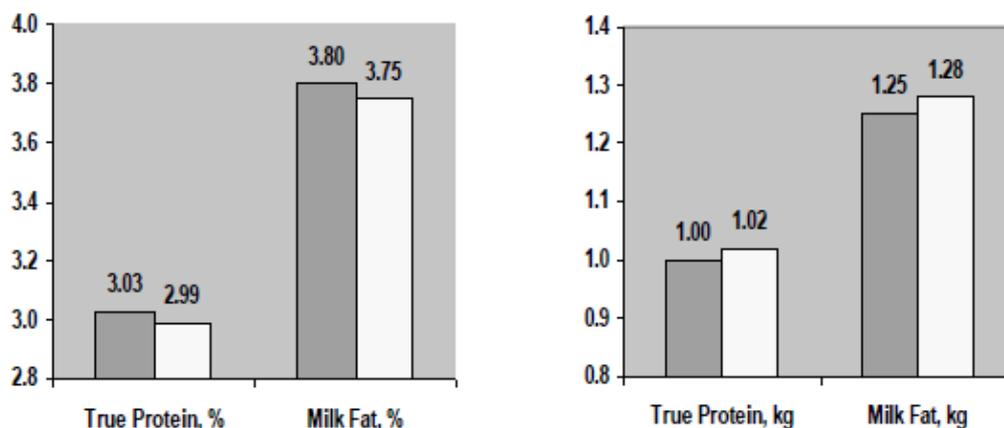


Figure 3: Milk components

Feed efficiency

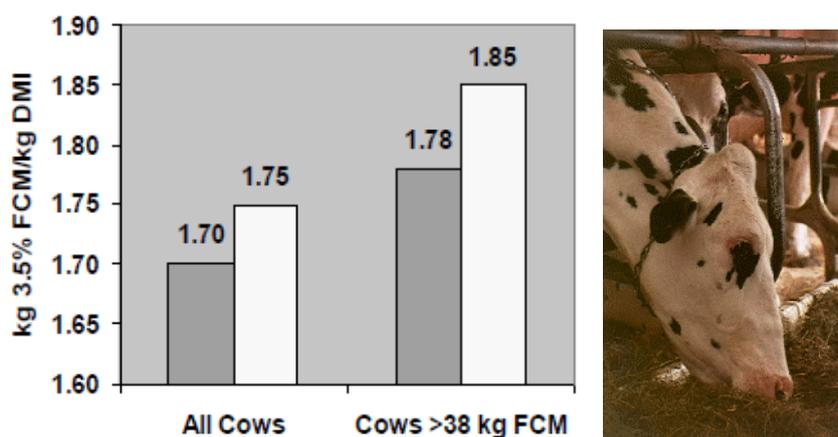


Figure 4: Feed efficiency

Table 2: Nutrient parameter estimates

Nutrient Parameter Estimates	Milk, kg	True Protein, %	True Protein, kg	Milk fat, %	Milk fat, kg
	R ² =0.95	R ² =0.79	R ² = 0.94	R ² =0.76	R ² =0.90
DMI, kg	1.92	-0.04	0.05	-0.09	0.03
Protein A, %DM	-0.96	0.08	---	0.18	---
Protein B ₁ , %DM	-2.42	---	---	0.37	---
Protein B ₂ , %DM	1.72	---	0.04	---	0.05
Protein B ₃ , %DM	7.46	---	0.21	---	0.17
Protein C, %DM	---	-0.58	-0.34	-1.08	-0.54
LCFA, kg	---	0.07	0.05	0.15	0.07
Methionine, %mp	---	---	---	2.10	1.03
Lysine, %mp	6.82	---	---	-0.98	---
Ferm NDF, kg	1.41	-0.03	0.04	---	0.04
Ferm Starch, kg	0.94	---	0.03	---	---
Ferm Sol Fiber, kg	0.92	---	0.03	-0.17	---

Discussion

Live yeast (SC I-1077) significantly improved 3.5% FCM production (35.54 vs. 34.58 kg/d for SC I-1077 and control) ($P < 0.0001$) with the effect being greater for cows < 100 DIM.

Feed Efficiency was improved with SC I-1077 (1.75 vs. 1.70 for SC I-1077 and control) ($P < 0.001$). Live yeast effects on feed efficiency were greater for cows producing > 38 kg milk/d.

The improvement in 3.5% FCM yield and feed efficiency, with the inclusion of SC I-1077 without any effect on DMI ($P > 0.10$), could be a consequence of improved rumen function (Chaucheyras-Durand and Fonty, 2001, Bach et al., 2007). Increasing fiber digestion and controlling rumen pH should increase microbial yield because more substrate will be available.

Further investigations should provide opportunities to design optimized diets with the inclusion of SC I-1077.

Conclusion

Live yeast (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077) increased 3.5% Fat-Corrected Milk Yield and Feed Efficiency across multiple experiments with varying diets.

References

- Bach A., C. Iglesias, and M. Devant. 2007. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. *Animal Feed Science and Technology*. 136:146-153.
- Chaucheyras-Durand, F. and G. Fonty. 2001. Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077. *Reprod. Nutr. Dev* 41:57-68
- Guedes C.M., D. Goncalves, M.A.M. Rodrigues, and A. Dias-da-Silva. 2008. Effect of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and fiber degradation of maize silage in cows. *Animal Feed Science and Technology*. 145:27-40
- Moya D., S. Calsamiglia, A. Ferret, and M.C. Fuentes. 2007. Effects of yeast and type of starch in pH fluctuation, nutrient digestion and microbial fermentation in a dual flow continuous culture system. *J. Anim Sci.* Vol. 85, Suppl. 1/*J. Dairy Sci.* Vol. 90, Suppl. 1.

Corresponding author

Eric Chevaux
Lallemand S.A.S.
Blagnac, France
Phone: +33 (0) 5 62 74 55 15; Fax: +33 (0) 5 62 74 55 00
E-mail: echevaux@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

The effect of addition of yeast culture on the content of IgG in colostrum of cows

**Martina Fröhdeová, Veronika Mlejnková, Kateřina Lukešová,
Richard Krobot and Petr Doležal**

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Mendel University in Brno, CZ

Introduction

Breeding cattle should kotyledon syndesmochirion placenta, which prevents the transmission of antibodies to the baby after birth, is dependent on their obtaining colostrum (Marvan et al., 1992). Colostrum, which is excreted in 3-5 days after birth, is a source of protein, beta-carotene, vitamin A, E, D, K, B, riboflavin, niacin, magnesium, sodium and potassium. The most important ingredient is colostrum immunoglobulin (Ig). In bovine colostrum are 3 types: IgG, IgM and IgA. Immunoglobulin G (IgG) accounts for about 70% of all immunoglobulins. They are the most abundant class of antibodies in the blood. Ig immunoglobulin G is effective in neutralizing bacterial toxins and inactivates viruses. If calf does not get enough insulin immunoglobulins in colostrum, it does not have sufficient immunity to overcome various diseases.

Own colostrum composition is influenced by several factors, such as age, breed, breeding technology, nutrition, standing on the length and condition dry cows. Quality colostrum intake has a major impact on the health and survival of calves from birth to weaning. It has a major impact on calf health, contributes to the intensity calf growth and feed conversion, future reproduction and milk production and longevity. The components of colostrum support the growth, development and function of the small intestine, rumen development and have positive metabolic and endocrine effects. The colostrum contained immune factors, hormones, growth factors, vitamins, minerals and essential nutrients.

Materials and methods

The present work was processed on the farm in the Pardubice region. In our experiment were involved 20 cows of Czech Spotted Cattle standing dry that were divided into control and experimental groups of 10. Experimental and control group were further divided according to the age of 5 heifers and 5 cows on 2nd and higher lactation. Cows received an identical ration. Experimental group received dry cows about 23 days before delivery allowance yeast *Saccharomyces cerevisiae* culture on the feeding medium, in the amount 50g/pc/day. The aim of our experiment was to demonstrate the effect of addition of yeast culture on the content of IgG in colostrum cows.

For cows colostrum was collected in terms of 0, 6, 12, 24, 48 and 72 hours after birth. Samples were taken by nursing staff in vacuum cans with a portable milking tract. Colostrum was kept in a 30 ml sample containers with appropriate labeling. Subsequently, the samples were frozen and colostrum as an integrated package was transported to the laboratory LABtechnik Brno. In the laboratory, the quantitative determination of IgG in bovine biological samples was accomplished using sandwich, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results were statistically analyzed using Microsoft Excel and Statistica 10.0.

Results and discussion

Because cattle have no placental transfer of maternal antibodies to fetal, transfer of passive immunity of cattle is secured by accumulation of extremely high concentrations of antibody, particularly IgG in colostrum (Kováč et al., 2001). The amount of absorbed immunoglobulins is influenced by the quality of colostrum and calf adulthood digestive tract. The immunoglobulin is the richest first colostrum after birth. In addition, colostrum rich in Ig may be deficient in specific antibodies against microflora environment of a newborn if the mother was moved to the barn shortly before parturition or if not properly vaccinated. In the first hours after birth there is in neonates little stomach acids and proteolytic enzymes, and it allows passage into the intestine intact immunoglobulins and their absorption from the gut. This ability is quickly lost. The interval between birth and the first intake of colostrum should be as short as possible, less than 10 hours (Bárta et al., 2008). Constant milking of cows or late harnessing of cows cause, that cows cannot produce the required amount of colostrum and particularly with the corresponding Ig content. Age of mothers also plays an important role, the colostrum from older cows exhibits a particularly high level of Ig, while with heifers is the level significantly lower (Doležal et al., 2012).

IgG in colostrum is important for the development of calf that are born without antibodies. If it is not sufficiently connected to the colostrum or colostrum is not good enough (contents IgG) there is insufficient transfer of colostrum antibodies (FPTA). Bárta et al. (2008) indicates that the quantity of IgG in the colostrum should range from 44.5 to 103.4g.l⁻¹, to prevent inadequate transfer of colostrum antibodies (FPTA), and thus health hazards of the calf.

Toman et al. (2000) give as the average value of IgG in early colostrum 73.95g.l⁻¹. Suchý et al. (2011) indicate that quality colostrum should contain 30 to 80g.l⁻¹ IgG. Further work from Šlosárková et al. (2011) reports, that with a birth of a cow ends the creation of colostrum and starts the creation of milk production. Colostrum, which has consisted in the mammary gland for 5 weeks (intensive two weeks) before childbirth begins diluting the produced milk. As a good colostrum can be considered the one where the content of IgG is greater than 50g.l⁻¹. Hofírek et al. (2009) give values of IgG in colostrum 116.20 ± 5.70g.l⁻¹.

Several studies demonstrated a positive effect of feeding yeast culture dry breeding their quality of colostrum (Doležal et al., 2012). The effect of addition of yeast culture on dry colostrum cows is shown in Table 1 and Figure 1 and 2 show a single development in heifers and cows on the 2nd and higher lactation.

Table 1: The content in colostrum IgG over time

Group		0	6	12	24	48	72
Heifers control group	IgG g/l	56,34 ± 29,128	57,93 ± 33,435	30,62 ± 16,993	20,36 ± 19,332	5,63 ± 2,907	4,60 ± 5,800
Heifers experimental group		56,18 ± 5,748	39,88 ± 10,656	34,72 ± 33,345	14,21 ± 5,986	7,15 ± 5,033	2,81 ± 1,556
Cows control group		111,48 ± 46,330	99,96 ± 43,903	62,04 ± 34,458	19,17 ± 11,738	6,24 ± 3,584	7,81 ± 7,961
Cows experimental group		122,96 ± 27,056	98,54 ± 85,441	64,90 ± 57,762	11,91 ± 5,115	7,42 ± 4,104	8,11 ± 5,559

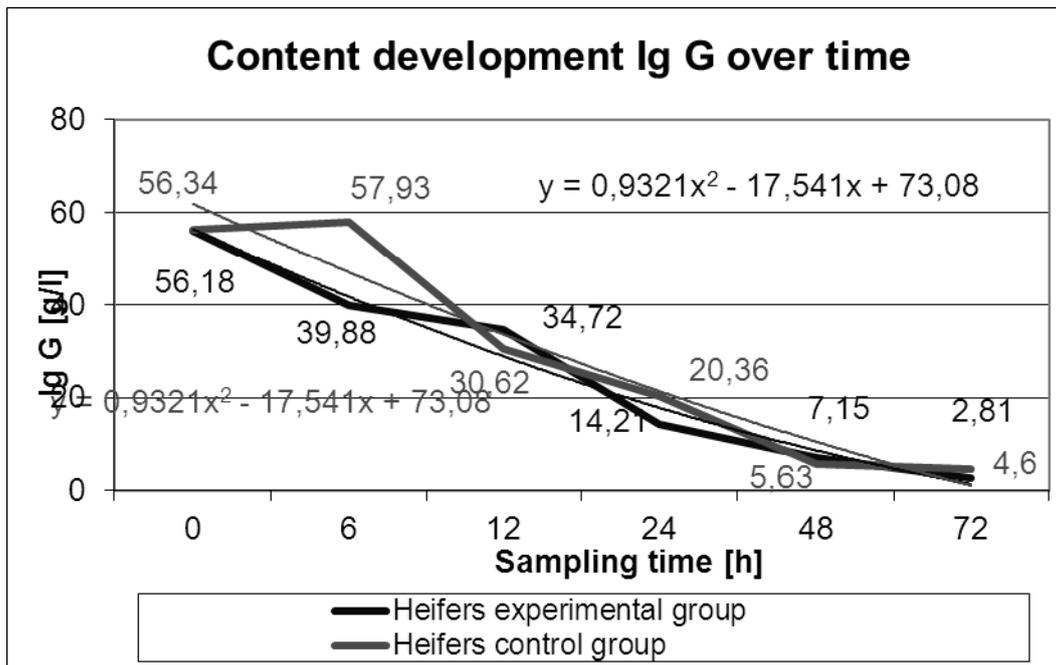


Figure 1: IgG levels in colostrum over time in heifers [g.l-1]

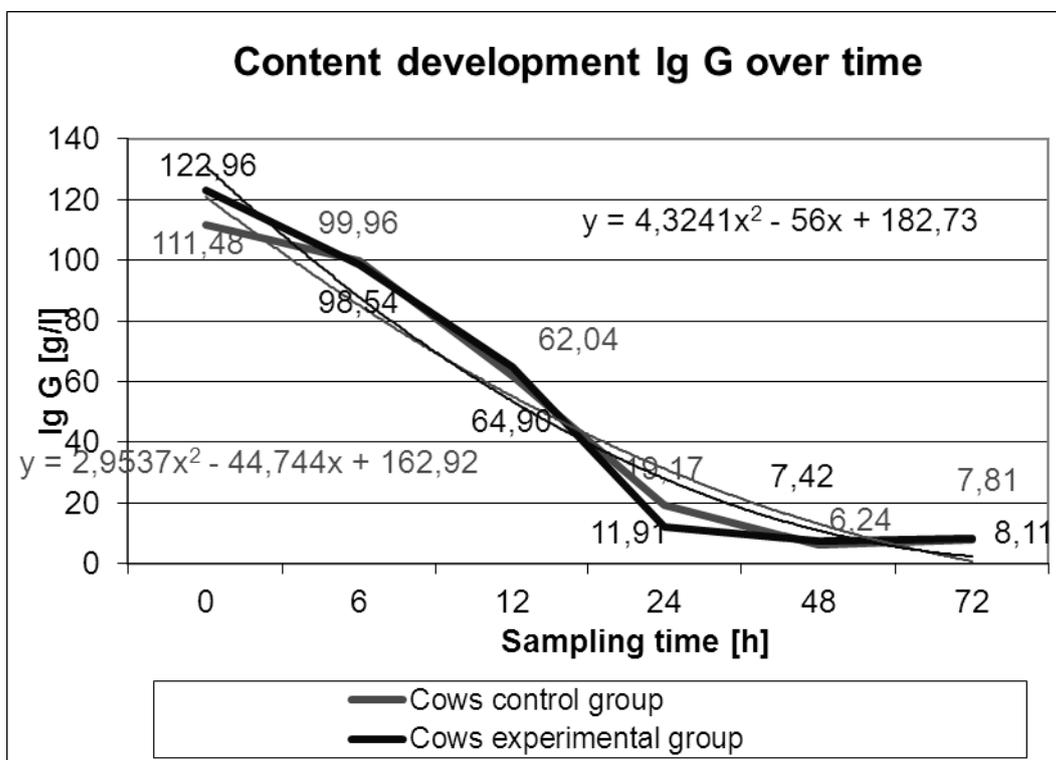


Figure 2: IgG levels in colostrum over time in cows 2nd and higher lactation [g.l-1]

From these results it is clear that the addition of yeast culture had a positive effect on content of IgG in colostrum of cows on the second and higher lactation while the control group during the first collection of colostrum immediately after birth had $111.48 \pm 46,330\text{g.l}^{-1}$ IgG and in experimental groups in the same collection were measured $122.96 \pm 27,056\text{g.l}^{-1}$ IgG. For heifers, however, this effect was not found. For heifers and cows on the 2nd and higher lactation, we can evaluate the level of IgG as satisfactory. The first samples of colostrum with this level of immunoglobulin G are sufficient, and should provide an adequate supply of calf antibody. This will ensure his passive immunity.

Conclusion

The most important prerequisites for a good profit in rearing calves are mainly health and future-built immune system. Especially young calves are susceptible to various diseases and infections. Life-threatening diarrhea just like flu infection can lead to severe losses and a large reduction in yield of animals.

To ensure adequate facilities calf antibody it is necessary to have a minimum value of colostrum immunoglobulins G 50g.l^{-1} . This value satisfied the first sampling even for cows heifers to 2 and higher lactation, but it is preferable to calves fed colostrum from cows that have a value greater than IgG heifers. From the results of the experiment we can conclude that feeding yeast culture had a positive effect on the content of IgG with cows at the 2nd and higher lactation, although this positive effect is not statistically significant.

Acknowledgement

This project was supported by IGA MENDELU BRNO No: TP 3/2012.

References

- Bárta Ota, Codner Ellen C., Pickett J. P., Shell L. G. (2008): *Veterinary Clinical Immunology (in Czech)*. CERM, ISBN 978-80-7204-553-2, 322 pp.
- Doležal P. et al. (2012): The effect of addition of yeast culture in the TMR dry cows on colostrum quality (*in Czech*). *Animal Physiology, Brno*, ISBN 978-80-7375-616-1, 20-27 pp.
- Hofírek B. et al. (2009): *Cattle diseases. Czech company buiatric (in Czech)*. Brno, ISBN 978-80-86542-19-5, 1149 pp.
- Kováč G. et al. (2001): *Cattle diseases, Prešov*, ISBN 80-88950-14-7, 874 pp.
- Marvan F. et al. (1992): *Morphology of livestock (in Czech)*. Praha, ISBN 978-80-213-1658-4, 303 pp.
- Suchý P. et al. (2011): *Nutrition and dietetics, II. Part - ruminant nutrition (in Czech)*. Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, ISBN 978-80-7305-599-8, 127 pp.
- Šlosárková S., Fleischer P., Pěnkava O., Skřivánek M. (2011): *Securing colostrum immunity in the newly born calves of dairy cattle and verifying its level in breeding and veterinary practice. Certified methodology (in Czech)*. University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, ISBN 978-80-7305-601-8, 24 pp.
- Toman M. et al. (2009): *Veterinary Immunology, 2, supplemented and updated edition (in Czech)*. Grada Publishing, ISBN 978-80-247-2464-5, 392 pp.

Corresponding author

Ing. Martina Fröhdeová
Mendel University in Brno
Zemědělská 1; 613 00 Brno
E-mail: xfrohdeo@mendelu.cz

Improvement of zootechnical parameters in weaned piglets by a phytogetic performance enhancer

Miriam Goerke and Karola Wendler

Delacon Biotechnik GmbH, Steyregg, AT

Introduction

Antibiotic growth promoters are criticized to increase the risk of development of antibiotic resistance in livestock and human. As a consequence, their application in livestock production has been banned in several countries. In order to maintain growth performance of farm animals and thus, productivity of livestock production, alternative feed additives gained importance during the last decades. Within the European Union, the application of feed additives is regulated by Directive 1831/2003. The regulation demands sophisticated information on composition, traceability, efficacy and safety of an additive. Phytogetic (plant based) feed additives (PFA) are known to exert beneficial effects on performance and health of farm animals (Windisch et al., 2008), which makes them valuable feed ingredients especially in antibiotic free production systems. The PFA Fresta[®] F (Delacon Biotechnik GmbH) is a preparation of the essential oils of caraway and lemon with a guaranteed carvone content of 0.35% in an excipient based on mixed, dried herbs and spices. The essential oils, as volatile active compounds, are partially protected through a patented micro-encapsulation technology. The non-encapsulated proportion improves sensory properties and serves as appetite enhancer. Fresta[®] F is the first, and up to now the only PFA registered as a phytogetic performance enhancer for weaned piglets in the category of zootechnical feed additives according to Directive 1831/2003. Effects may vary however, depending on management and feeding, diet composition and genetics of animals. Thus, aim of the present study was to demonstrate the performance enhancing properties of the PFA Fresta[®] F in a trial with newly weaned piglets.

Material and methods

A 40 days lasting trial was conducted to evaluate the effect of the phytogetic feed additive Fresta[®] F on zootechnical performance of piglets post weaning. A total of 160 crossbred piglets were fed a common corn-wheat-barley based prestarter and starter diet, either supplemented with 250 g/t of the PFA Fresta[®] F (Delacon Biotechnik GmbH, Austria) or without supplements (negative control). Feed and water were *ad libitum* available throughout the whole trial. On day 12 of the trial, diets were changed from prestarter to starter diet. Piglets were kept in 16 pens, castrates and females were housed separately. There were 10 pens with male and 6 pens with female piglets. Animals were weighed one day before start of the trial (age of 27 days, 7.9 kg), pens were then assigned to treatments in order to obtain homogeneous treatment groups (with respect to live weight and genetics) and equal start weight between treatments. An intermediate weighing took place after 12 days (age of 39 days, approx. 9.1 kg) and again after 29 days (age of 68 days). Feed intake of animals was recorded per pen. Weight gain and feed intake data were analyzed separately for the prestarter and starter period and for the whole trial period. After checking for normality and homogenous variances, data was analyzed by Proc GLM of the statistical software package SAS. The model included treatment and sex as well as the 2-way interaction between treatment and sex as independent factors. The significance level was set at $P \leq 0.05$ and $0.05 < P \leq 0.10$ was considered as a near-significant trend.

Results and discussion

Piglets were healthy during the whole trial period, except for 5 piglets which did not reach end of trial (overall losses 3.1%). During prestarter phase three piglets were removed, due to bad performance and one piglet died of unknown reason. Another piglet died during starter period. Overall losses were very low and treatment differences could not be detected (3 piglets of negative control group and 2 piglets of treatment group did not reach trial end, resulting in n= 77 and n= 78 piglets for negative control and treatment group, respectively).

The effects of the PFA Fresta[®] F on average daily feed intake (ADFI), average daily gain (ADG) and feed conversion ratio (FCR) are shown in Table 1.

Table 1: Effect of the PFA Fresta[®] F on average daily feed intake (ADFI), average daily gain (ADG) and feed conversion ratio (FCR; LSmeans±SD)

	Negative Control	Fresta [®] F	P-value (Treatment)
ADFI Day 0-12	0.209±0.039	0.223±0.039	0.49
ADFI Day 12-41	0.823±0.04	0.816±0.04	0.75
ADFI Day 0-41	0.642±0.03	0.642±0.03	0.98
ADG Day 0 - 12	0.091±0.031	0.110±0.031	0.28
ADG Day 12-41	0.389±0.048	0.428±0.048	0.09
ADG Day 0-41	0.298 ^b ±0.031	0.337 ^a ±0.031	0.04
FCR Day 0-12	2.39±0.730	2.16±0.730	0.57
FCR Day 12-41	2.15±0.240	1.91±0.240	0.08
FCR Day 0-41	2.17 ^b ±0.206	1.92 ^a ±0.206	0.04

^{a, b} within a row, different superscripts differ $P \leq 0.05$.

ADFI calculated over the whole trial period was the same in both treatment groups. However, during the first 12 days piglets of the Fresta[®] F group consumed 7 % more feed compared to negative control. Low feed intake of piglets after weaning is associated with intestinal villus atrophy, leading to diminished intestinal barrier function against pathogens (Dong and Pluske, 2007) and impaired enzyme secretion and/or activity (Huguet et al., 2006). Therefore, high feed intake in the prestarter phase is of special importance to prevent postweaning growth lag as well as the occurrence of diarrhea. In the present study, in the second period (day 12 to 40) feed intake of piglets of the treatment group was about 1 % lower compared to control piglets. Due to the absolute higher daily feed consumption of pigs in the later trial phase, 1 % reduction of feed intake compensates for 7 % higher feed intake post weaning in the Fresta[®] F fed group.

The higher ADFI directly postweaning was reflected in a 21% higher ADG in the prestarter period. Interestingly, although in the starter period ADFI was slightly lower compared to the negative control, ADG of Fresta[®] F fed piglets still tended ($P=0.09$) to be higher compared to the negative control. This finding may be attributed to lower intestinal cell atrophy and therefore a better developed digestive tract due to the higher feed intake in Fresta[®] F fed piglets early postweaning. Moreover, essential oils and spices present in Fresta[®] F may have led to improved secretion and activity of digestive enzymes (Platel and Srinivasan, 2000) and thereby to a better utilization of dietary nutrients, which overcompensates the slightly reduced feed intake in this experimental period. Calculated over the whole trial period ADG of piglets was 13 % ($P=0.04$) higher compared to the negative control.

In the present study, in the prestarter phase piglets of Fresta[®] F group showed 9.7 % improved FCR compared to negative control. In the subsequent starter phase Fresta[®] F fed piglets tended ($P=0.08$) to have better FCR compared to negative control. Calculated over the total trial period of 40 days,

there was 11% better FCR ($P=0.04$) in Fresta[®] F fed piglets compared to negative control. The improved ADG and FCR in Fresta[®] F supplemented animals was also reflected in the body weight of piglets at day 12 and at the end of the trial (Figure 1).

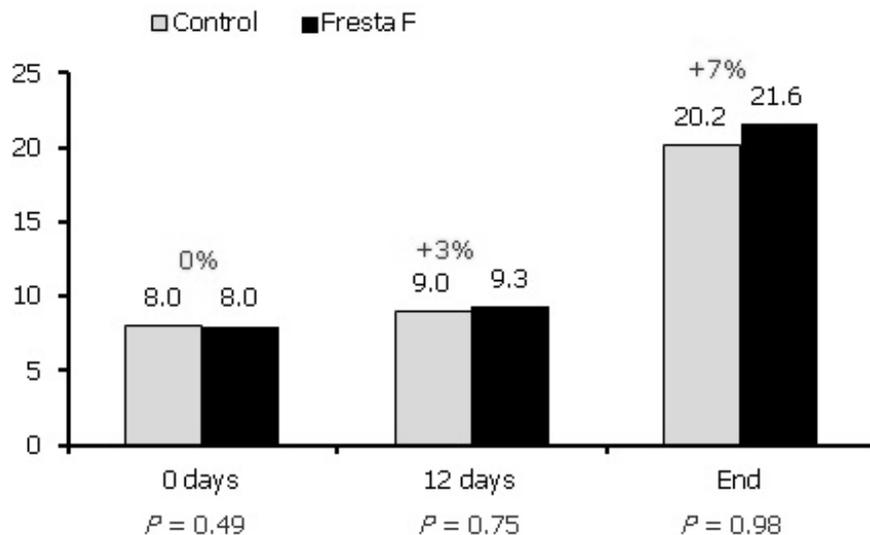


Figure 1: Body weight development in pigs fed either on control diet or control diet supplemented with Fresta[®] F

At day 12 and at the end of trial (day 40) body weight of piglets in Fresta[®] F group was 3 % and 7 % higher compared to negative control, respectively. The higher body weight of Fresta[®] F fed group at the end of the trial amounted to an average of 1.4 kg.

Conclusion

The results of the present study emphasize the importance of a high feed intake early post weaning. It is assumed that due to the better development of the gastro-intestinal tract and digestive function induced by the higher early feed intake, long lasting improvements of zootechnical performance can be obtained by inclusion of Fresta[®] F in piglet diets.

References

- Dong, G. Z., and Pluske, J. R. (2007) The low feed intake in newly-weaned pigs: Problems and possible solutions. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 20: 440-452.
- Huguet, A., Savary, G., Bobillier, E., Lebreton, Y., and Le Huerou-Luron, I. (2006) Effects of level of feed intake on pancreatic exocrine secretions during the early postweaning period in piglets. *Journal of Animal Science* 84:2965-2972.
- 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., Pletzner, 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

Miriam Goerke, R&D Species Manager Swine
Delacon Biotechnik GmbH
Weissenwolfstr. 14, A-4221 Steyregg
E-mail: miriam.goerke@delacon.com

Effect of a patented combination of plant extracts on piglets performance

Gaëlle Benzoni¹, Jean-Marc Laurent¹, Daniel Coquil², André Morel² and Marie-Laurence Le Ray³

¹ Invivo NSA R&D department, FR

² LE NIVOT agricultural secondary school, FR

³ NEOVIA feed additives, FR

Introduction

Feed transition, housing change, separation from mother and litter, physiological and immune variations are some of the great changes of weaning. Piglets are facing multi-factorial stresses in a short time. One of the most visible impacts of these stresses is the great decrease in feed intake after weaning. This drop in feed intake is likely to cause difficulties to cover growth requirements, due to reduction of the villous height and thus nutrient absorption area, and to mobilisation of fat and muscle reserves. Besides these consequences, there are non-visible impacts at physiological and metabolic levels. Indeed weaning means first encounter between piglets and some raw materials. Consequently animals have to adapt their enzymatic system in order to digest these new raw materials, which is an important physiological change. As the first reaction of piglets' organism is to consider new feed as an antigen, they have also to adapt their immune system in order to accept this new feed. As 70 to 80% of the immune cells are located in the gut, this adaptation can generate local inflammation and oxidative stress. In contact with antigens, macrophages induce the production of pro-inflammatory and oxidative stress markers and this consumes a lot of energy and nutrients. To help animals coping with this stressful period, a combination of plant extracts has been tested in the farm of an agricultural secondary school. These natural active ingredients have been selected for their anti-inflammatory and anti-oxidant properties. Former results have indicated the synergistic action between the three plant extracts. One additional described property of these plant extracts is the modulation of intestinal motility which can be interesting to reduce diarrhoea disorders. The combination of these three plant extracts has proved to be more efficient than each plant extract alone. Thus, this combination and the right dosages of each extract have been patented.

Material and methods

Animals

A total of 77 sows (Youna genetic line) from 3 successive batches were divided into two groups: half of them were fed with the combination of plant extracts 15 days before farrowing and during the whole lactation (21 days). The other half was fed without feed additive.

After weaning, 624 piglets from these 77 sows were followed during post-weaning period: half of them were fed with the plant extracts combination and the other half without feed additive. Four different groups of piglets were constituted depending on their own diet and depending on their mother's diet (figure 1). Plant extracts combination was distributed to half of piglets from weaning (21 days of age) until the end of post-weaning period (67 days of age). Pre-starter feed was offered from 21 days until 42 days of age, and starter feed from 42 days until 67 days of age. All formulas were without antibiotics, zinc oxide nor acidifier and were distributed ad libitum.

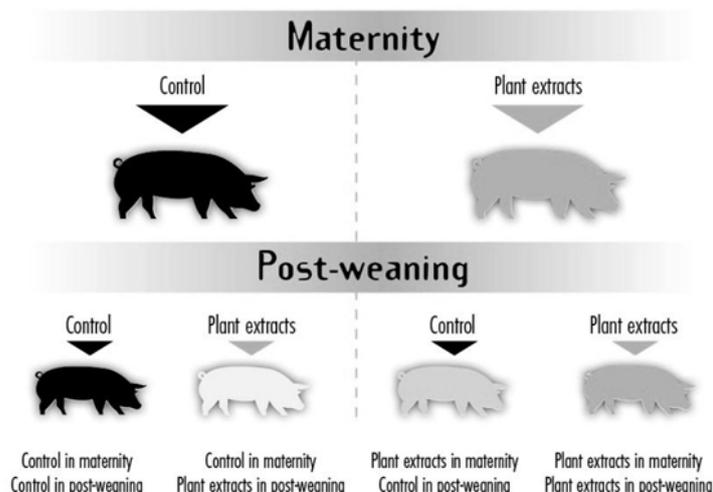


Figure 1: Experimental design

Diets

During gestation and lactation, feed specifications were respectively as follow: 2985 kcal/kg of digestible energy, 13.5% of crude protein, 4% of fat, 0.67% of lysine; 3400kcal/kg of digestible energy, 16.8% of crude protein, 5.1% of fat, 1.01% of lysine.

Pre-starter and starter feed specifications were respectively as follow: 19.2% of crude protein, 6.8% of fat and 1.30% of lysine; 16.5% of crude protein, 1.7% of fat and 1.2% of lysine.

Measurements

The following parameters were recorded in farrowing room: sows' weight at the entry in the rooms and at weaning (21 days), feed intake of sows, piglets' weight at birth, 24h after birth and at weaning, number of dead and alive piglets at farrowing, 24h after birth and at weaning. Number of dead piglets or sows was recorded daily. Statistical evaluation of weight, prolificity, percentage of mortality was made with the analysis of variance method. Number of dead piglets in each group was treated with the Chi² method.

In post-weaning period, piglets' weight and feed intake were measured weekly and feed conversion ratio and average daily gain were calculated. Number of dead piglets was recorded every day. Data were subjected to analysis of variance.

Results

Maternity (from farrowing to weaning)

The number of dead piglets per sow between 24h after farrowing and weaning tended to decrease with the use of plant extracts (table 1, $p < 0.1$): 0.17 dead piglet in the test group compared to 0.46 dead piglet in the control group.

There was no significant impact of the plant extracts on other maternity performance such as prolificity, sows and piglets weights (table 2).

Table 1: Piglets' mortality between 24h after farrowing and weaning

Without plant extracts	With plant extracts	Difference
0.46 dead piglet /sow	0.17 dead piglet / sow	P<0.1

Table 2: Maternity results

	Without plant extracts	With plant extracts	Difference
Weight loss of sows between beginning and end of maternity period	35.2 kg/sow	36.7 kg/sow	NS
Number of alive born piglets	14.90	15	NS
Number of weaned piglets	12.2	12.4	NS
Daily feed intake of lactation feed	6.13 kg/d/sow	6.11 kg/d/sow	NS
Average weight of piglets at weaning	6.5 kg/ piglet	6.5 kg/piglet	NS

Post-weaning

Average daily gain (ADG) of piglets in post-weaning was significantly improved with the plant extracts (figure 2). The best performance was obtained with the group of piglets fed with plant extracts in post-weaning and originating from sows fed also with plant extracts. ADG of this group of piglets was improved by 11.4% ($p<0.001$) compared to ADG of control group (without plant extracts in sows and piglets diets). Groups of piglets fed with plant extracts only in maternity or only in post-weaning obtained better results than those of control group (respectively +4.9% and +3.5%).

Improvement of ADG was observed in the global post-weaning period but also during the pre-starter and the starter periods. During the prestarter period, group fed with plant extracts in maternity and in post-weaning had a 30% higher ADG than negative control group (+53g/d, $p<0.001$). During starter period, the ADG of piglets receiving the plant extracts was 6.1% ($p<0.05$) higher than those receiving the control diet.

At the end of post-weaning period, live weight of piglets was increased by 2.15kg/piglet ($p<0.01$) in the group fed with plant extracts in maternity and post-weaning (29.44 kg/piglet at 67 days of age) compared to negative control group (27.29 kg/piglet at 67 days of age).

Feed intake tended also to be improved by plant extracts combination: 7% (NS) of additional feed intake was obtained in the group fed with natural active ingredients in maternity and post-weaning compared to negative control group (table 3).

Consequently, feed conversion ratio tended also to be improved (NS) in the plant extracts group: 4.3% of improvement compared to control group (table 3).

Discussion

This trial has demonstrated the great impact of sow diet on piglets' performance. Best results were obtained when the plant extracts combination was distributed to sows from maternity period and then to piglets from weaning until the end of post-weaning period. When plant extracts were distributed only in maternity or only in post-weaning, performance of piglets in post-weaning were better than those of negative control group but lower than those of the group with plant extracts distributed during both periods. This indicates a cumulative effect of these plant extracts on piglets' performance. Besides this cumulative effect, there is also what we can call a "back-effect" of the distribution of plant extracts in maternity on post-weaning performance. Indeed, when plant extracts are distributed in maternity, main effects are visible on piglets after weaning and not during the distribution in maternity. This result highlights the great impact of sows' metabolic stress' management on future pig-

lets' performance. When sows receive plant extracts with anti-inflammatory and anti-oxidant properties, they may produce a milk of better quality (decrease in piglet mortality in maternity) and consequently, better prepare their litter to face weaning changes.

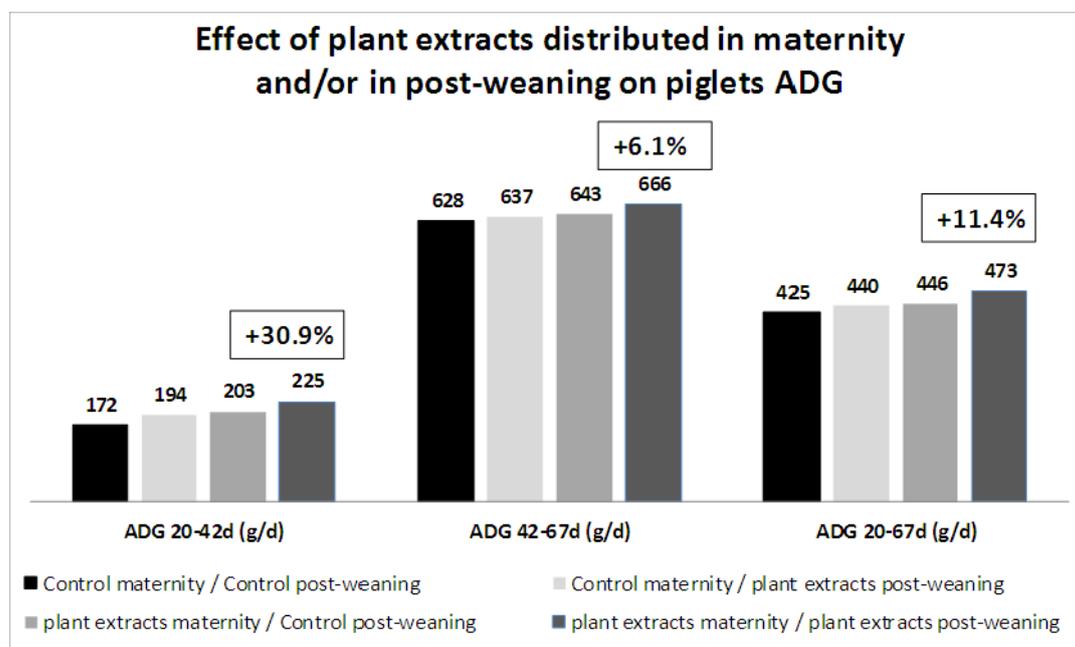


Figure 2: Piglets ADG in post-weaning

Table 3: Daily feed intake and feed conversion ratio

	Without plant extracts (maternity and post-weaning)	With plant extracts (maternity and post-weaning)
Daily feed intake (g/d)	687	735
Feed conversion ratio	1.62	1.55

Conclusion

Combining plant extracts with different properties allows higher benefit from synergies to better face inflammatory and oxidative processes around weaning. This trial highlights maternal impact on weaning preparation. Inflammatory and oxidative processes can be calmed down during lactation and a right management of sows during this period has indirect impacts on piglets' performance after weaning.

Corresponding author

Marie-Laurence Le Ray
NEOVIA
Talhouët
56250 SAINT-NOLFF
E-mail: mleray@invivo-nsa.con

Effect of herbal extracts added to feed mixture on boar reproduction traits

Alena Lustyková¹, Eva Václavková¹, Miroslav Rozkot¹, Soňa Frydrychová¹, Jan Lipenský¹ and Lubomír Opletal²

¹ Institute of Animal Science Prague Uhřetěves, Department of Pig Breeding Kostelec nad Orlicí, CZ

² Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, CZ

Abstract

At the present time, new possibilities how to positively affect animal performance in farm conditions are searching. The artificial insemination is widespread in reproduction process. But stressful situations can occur in great herds and they have negative effect on reproduction functions. Thereby new feed additives-herbal extracts for improvement of boar reproduction ability are used. The objective of the study was to evaluate the effect of *Eurycoma longifolia*, *Tribulus terrestris* and *Leuzea carthamoides* extract on reproduction functions and semen quality of boars. Boars were divided in two groups (5 animals in each) and housed at the insemination station. Feed mixture with herbal extract and lauric acid addition was fed to trial group for 9 weeks. The samples of ejaculate were collected and libido sexualis evaluation was performed every week. There was not statistically significant differences in libido sexualis and semen quality parameters between experimental and control group at the beginning of the experiment. Libido sexualis was improved during the experiment (3.84 ± 0.57 points in trial group vs. 3.58 ± 0.62 in control group). But percentage of abnormal spermatozoa was higher in trial group (33.95 ± 16.95 % vs. 26.91 ± 16.14 %, $P < 0.05$). No other negative effect of herbal extract was monitored. The concentration of free amino acids in seminal plasma was improved during the experiment in trial group.

Introduction

At the present time, new possibilities how to positive affect animal performance in farm conditions are searching. The artificial insemination is widespread in reproduction process. But stressful situations can occur in great herds and they have negative effect on reproduction functions. Thereby new feed additives-herbal extracts for improvement of boar reproduction ability are used. Herbal extracts on quassinoids basis have fundamental importance in many biological activities. They are a group of structurally complex and highly oxygenated degraded triterpenes. They are divided into five groups according to their basic sceleton, C-18, C-19, C-20, C-22 and C-25. Their biological activities include functions such as antitumor, antifeedant, insectidal, anti-inflammatory and antiulcer [1]. Quassinoids have also aphrodisiac function. The effects of *Eurycoma longifolia* Jack extracts on sexual qualities in middle male rats were studied by [3]. Results of their experiment showed that this extract enhanced the sexual qualities by decreasing their hesitation time. Positive effect of *Eurycoma longifolia* extract was also found on libido sexualis of male rats [2]. Aphrodisiac effect and hormonal effect were described by [5] in extract from *Tribulus terrestris* L. (*Zygophyllaceae*). *Tribulus terrestris* was used in traditional Chinese and Indian systems for the treatment of various ailments and for improvement of sexual functions. In the study of [11] the aphrodisiac properties of the furostenol glycoside fraction from *Tribulus terrestris* were studied in male castrated rats. The improvement in sexual behaviour – increase in mounting frequency, intromission frequency and ejaculation latency – was observed.

Plants and their secondary metabolites exhibit a wide range of biological effects. Antioxidant effect of *Leuzea carthamoides* extract was observed [9]. The extract has adaptogenic effect, decreases unfavourable influence of different stress factors, increases proteosynthesis and enhances libido sexualis.

We did not find any published data that characterize the effect of *Eurycoma longifolia*, *Tribulus terrestris* and *Leuzea carthamoides* extracts on reproduction functions and semen quality in boars.

Material and methods

Effect of *Eurycoma longifolia*, *Tribulus terrestris* and *Leuzea carthamoides* extract on reproduction functions and semen quality of boars were studied in the experiment. Boars were divided in two groups – five boars in control group (C) and five boars in trial group (H). Animals were fed with commercial feeding mixture for boars, dry mixture of these herbal extracts with lauric acid was added in trial group, only carrier was added in feeding mixture for control group (25 g of preparation/boar/day). The boars were housed in the same conditions of insemination station in one stable. The experiment lasted 9 weeks, the first week was control period (without herbal extract in feeding mixture) and the first samples of ejaculate were collected. The feeding mixture with herbal extracts was fed in next eight weeks after control period (in group H) and samples of ejaculate and libido sexualis evaluation were performed every week. The ninth week was control period (without herbal extracts) and last samples of ejaculate were collected. The following parameters were monitored during the experiment: semen volume, sperm concentration, sperm motility, sperm morphology, parameters of seminal plasma (content of free amino acids). The determination of morphologically abnormal spermatozoa was evaluated microscopically (magnification of 1500x) on stained smears of the native semen on slides according to [4]. Libido sexualis was evaluated subjectively by staff in insemination station according scale from 1 to 5 points. The free amino acid content in seminal plasma - taurin (Tau), aspartic acid (Asp), threonine (Thr), serine (Ser), glutamic acid (Glu), glycine (Gly), alanine (Ala), valine (Val), methionine (Met), isoleucine (Ile), leucine (Leu), thyrosine (Tyr), phenylalanine (Phe) and lysine (Lys) - were measured by automatic amino acid analyzer AAA 339 M. One ml of seminal plasma was deproteinized by adding 1 ml of acetylsalicylic acid, centrifuged for 15 minutes (3000 rpm), supernatant was filtered and 1 ml of buffer (pH 4.65) was added. The statistical program QC Expert was used for statistical evaluation of the results from the experiment. Basic statistical characteristics (mean, standard deviation) were calculated. Mean values were compared by the unpaired t-test. Significance was declared at $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$ level.

Results and discussion

A comparison of semen quality parameters from the first semen collection (before feeding herbal extracts in feeding mixture) is presented in Table 1. There were not found significant differences between control (C) and trial group (H) in semen volume, sperm concentration, sperm motility, abnormal sperm percentage, percentage of live sperms. The semen volume was found higher in C group in comparison to H group (334.00 ± 135.02 ml vs. 296.00 ± 81.42 ml, $P > 0.05$). There was not difference in sperm motility between C and H group (69.00 ± 12.94 % vs. 66.00 ± 10.84 %, $P > 0.05$) in the samples of ejaculate from the first collection. The percentage of abnormal sperms was higher in H group (33.90 ± 24.02 % vs. 16.50 ± 8.80 %) but without significant difference between both groups. The estimation of libido sexualis was better in H group (3.60 ± 0.55) than in C group (3.20 ± 0.84).

Data from the ninth ejaculate collection (at the end of the experiment) are given in Table 2. There were not found out significant differences between C and H group in monitored parameters although there was higher percentage of abnormal sperms (36.00 ± 20.40 % vs. 22.50 ± 8.28 %) and lower motility (57.50 ± 5.00 % vs. 74.00 ± 6.52 %) in H group.

Table 1: Comparison of basic semen quality characteristics in control (C) and trial group (H) – the first semen collection (mean \pm standard deviation)

Group	Libido sexualis evaluation	Semen volume (ml)	Sperm motility (%)	Abnormal spermatozoa (%)	Sperm concentration ($10^3/\text{mm}^3$)	Live spermatozoa (%)
C	3.20 \pm 0.84	334.00 \pm 135.02	69.00 \pm 12.94	16.50 \pm 8.80	532.40 \pm 81.16	79.40 \pm 9.18
H	3.60 \pm 0.55	296.00 \pm 81.42	66.00 \pm 10.84	33.90 \pm 24.02	542.50 \pm 151.78	69.40 \pm 6.43

Table 2: Comparison of basic semen quality characteristics in control (C) and trial group (H) – the end of experiment (mean \pm standard deviation)

Group	Libido sexualis evaluation	Semen volume (ml)	Sperm motility (%)	Abnormal spermatozoa (%)	Sperm concentration ($10^3/\text{mm}^3$)	Live spermatozoa (%)
C	4.00 \pm 0.00	348.00 \pm 114.05	74.00 \pm 6.25	22.50 \pm 8.28	343.00 \pm 104.12	67.00 \pm 7.35
H	4.00 \pm 0.00	350.00 \pm 52.92	57.50 \pm 5.00	36.00 \pm 20.40	363.75 \pm 133.21	66.25 \pm 7.93

Table 3: Comparison of basic semen quality characteristics in control (C) and trial group (H) – the whole experiment (mean \pm standard deviation)

Group	Libido sexualis evaluation*	Semen volume (ml)	Sperm motility (%)	Abnormal spermatozoa (%)*	Sperm concentration ($10^3/\text{mm}^3$)	Live spermatozoa (%)
C	3.58 \pm 0.62	346.33 \pm 111.49	68.67 \pm 9.38	26.91 \pm 16.14	366.99 \pm 118.95	67.02 \pm 8.68
H	3.84 \pm 0.57	346.74 \pm 73.61	68.14 \pm 8.66	33.95 \pm 16.95	369.26 \pm 121.61	66.07 \pm 9.00

*P<0.05

The average value of monitored parameters from all nine collections during the experiment is given in Table 3. Positive effect of herbal extract added into feeding mixture on libido sexualis in H group was detected. Valuation of libido sexualis was higher in H group in compared to C group (3.84 \pm 0.57 vs. 3.58 \pm 0.62, P<0.05). Positive effect of herbal extracts from *Tribulus terrestris* and *Eurycoma longifolia* also described on libido sexualis in male rats [2, 6]. The semen volume, sperm motility, sperm concentration and percentage of abnormal sperms were very similar in both groups. The percentage of abnormal sperms was significantly higher in H group (P<0.05).

The content of free amino acids in seminal plasma in the first and the ninth collection is presented in Table 4 and 5. There was observed higher content of all monitored free amino acids after 8 weeks of herbal extracts feeding in H group. Statistically significant difference was detected for Tau (P<0.01), Ala (P<0.01), Val (P<0.001), Met (P<0.001), Ile (P<0.05), Leu (P<0.05), Tyr (P<0.05), Phe (P<0.05) and Lys (P<0.05).

The average value of free amino acid content from the beginning to the end of the experiment is illustrated in Figure 1. There are not significant differences between group C and group H. The highest average concentration was measured for glutamic acid (17.43 \pm 5.14 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ in C group, 21.55 \pm 7.59 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ in H group). Glutamic acid was marked as predominant in boar seminal plasma in experiment with Yorkshire boars and serine as the second most prevalent amino acid [7, 8, 10]. Glycine was the second major amino acid in our experiment. Its concentration in seminal plasma in C group was measured 12.81 \pm 7.29 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ and 14.65 \pm 13.37 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ in H group (P>0.05). The third highest concentration was measured for taurine amino acid (7.48 \pm 4.26 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ in group and 7.87 \pm 5.46 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ in H group, P>0.05).

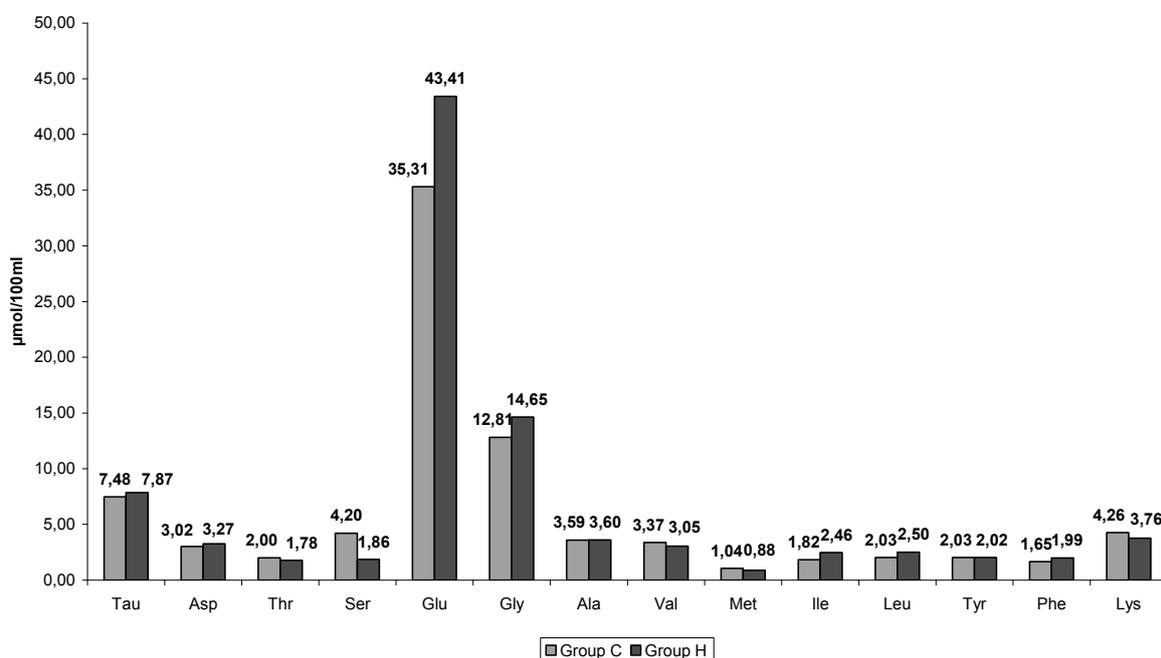
Table 4: Concentration of free amino acids in boar seminal plasma in control (C) and trial group (H) – the first semen collection

Group	Free amino acids (µmol/100ml)														
	Tau	Asp	Thr	Ser **	Glu	Gly	Ala **	Val	Met ***	Ile *	Leu **	Tyr	Phe	Lys ***	
C	mean	6.74	2.27	3.16	2.22	17.43	8.06	3.46	2.41	2.57	2.09	2.76	2.70	2.41	4.69
	sd	1.62	1.57	1.57	0.89	5.14	2.64	0.50	0.78	0.75	0.49	1.18	1.58	1.13	1.19
H	mean	4.96	2.07	1.60	0.84	24.55	6.80	1.97	1.24	0.39	1.04	0.82	0.93	1.09	1.45
	sd	2.04	1.73	0.57	0.24	7.59	1.83	0.84	1.06	0.34	0.66	0.45	0.38	0.27	0.56

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001

Table 5: Concentration of free amino acids in boar seminal plasma in control (C) and trial group (H) – the end of experiment

Group	Free amino acids (µmol/100ml)														
	Tau	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	
C	mean	8.31	3.52	2.13	2.25	49.74	23.15	5.44	5.88	0.85	3.27	3.33	2.44	2.56	4.63
	sd	3.02	2.67	0.88	1.01	22.09	8.01	2.07	2.84	0.21	1.62	1.10	1.17	1.10	2.85
H	mean	21.12	8.65	4.83	4.68	107.86	44.10	6.80	6.71	1.66	7.03	7.60	4.45	4.84	12.32
	sd	7.63	5.88	2.71	3.04	65.73	30.55	2.73	1.44	0.19	3.31	3.45	1.58	2.00	4.97

**Figure 1:** Concentration of free amino acids in boar seminal plasma in control (C) and trial group (H) – the whole experiment

Conclusion

The positive effect of *Eurycoma longifolia*, *Tribulus terrestris* and *Leuzea carthamoides* extract on reproduction functions of boars were detected in the experiment. Significant improving of libido sexualis was registered. The herbal extract had no negative effect on quality of ejaculate, except higher occurrence of morphologically abnormal spermatozoa. The concentration of free amino acids in seminal plasma was improved.

Acknowledgement

The study was supported by Ministry of Agriculture of the Czech Republic-project QI111A166.

References

- [1] Almeida M.M.B., Arriaga A.M.C., Dos Santos A.K.L., Lemos T.L.G., Braz R., Vieira I.J.C., Occurrence and biological activity of quassinoids in the last decade, *Quim. Nova* (2007) 30: 935-951
- [2] Ang H.H., Sim M.K., *Eurycoma longifolia* Jack enhances libido in sexually experienced male rats, *Exp. Anim.* (1997) 46: 287-290.
- [3] Ang H.H., Ngai T.H., Tan T.H., Effects of *Eurycoma longifolia* Jack on sexual qualities in middle aged male rats, *Phytomedicine* (2003) 10: 590-593.
- [4] Čeřovský J., Metoda barvení kančích spermií pro morfologické hodnocení, *Živ.Výr.* (1976) 21: 361-366.
- [5] Gauthaman K., Adaikan P.G., Prasad R.N.V., Aphrodisiac properties of *Tribulus terrestris* extract (Protodioscin) in normal and castrated rats, *Life Sci.* (2002) 71: 1385-1396.
- [6] Gauthaman K., Ganesan A.P., The hormonal effects of *Tribulus Terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction-an evaluation using primates, rabbit and rat, *Phytomedicine* (2008) 15: 22-54.
- [7] Hood R.D., Witters W.L., Foley C.W., Erb R.E., Free amino acids in porcine spermatozoa, *J. Anim. Sci.* (1967) 26: 1101-1103.
- [8] Johnson L.A., Pursel V.G., Gerrits R.J., Thomas C.H., Free amino acid composition of porcine seminal, epididymal and seminal vesicle fluids, *J. Anim. Sci.* (1972) 34: 430-434.
- [9] Koleckar V., Opletal L., Brojerova E., Rehakova Z., Cervenka F., Kubikova K., Kuca K., Jun D., Polasek M., Kunes J., Jahodar L., Evaluation of natural antioxidants of *Leuzea carthamoides* as a result of a screening study of 88 plant extracts from the European Asteraceae and Cichoriaceae, *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* (2008) 23: 218-224.
- [10] Louis G.F., Levis A.J., Weldon W.C., Miller P.S., Kittok R.J., Stroup W.W., The effect of protein intake on boar libido, semen characteristics and plasma hormone concentrations, *J. Anim. Sci.* (1994) 72: 2038-2050.
- [11] Tyagi R.M., Aswar U.M., Mohan V., Bodhankar S.L., Zambare G.N., Thakurdesai P.A., Study of furostenol glycoside fraction of *Tribulus terrestris* on male sexual function in rats, *Pharm. Biol.* (2008) 46: 191-198.

Corresponding author

Ing. Alena Lustykova, Ph.D.
Institute of Animal Science Prague
Department of Pig Breeding
Komenskeho 1239; 51741 Kostelec nad Orlicí; Czech Republic



INNOVATIVE BIOACTIVE SOLUTIONS

XTRACT[®]

GUT^{PROVED}
EFFECTS

- Standardized combinations of **active substances** naturally occurring in aromatic plants and spices, selected for their **proven in-vivo effects**
- The tool to promote **performance and defence** across many animal species
- Micro-encapsulation technology ensuring **superior stability and consistent product performance**

BonAgro



www.pancosma.com


Pancosma
just makes sense

A standardized blend of carvacrol, cinnamaldehyde and capsicum oleoresin improves energy partitioning in broilers

V. Pirgozliev¹, D. Bravo², P. Rose³ and C. Oguey²

¹ Avian Science Research Centre, Scottish Agricultural College, Ayr, UK

² Pancosma S.A., Geneva, CH

³ National Institute of Poultry Husbandry, Harper Adams University College, Newport, UK

Introduction

Up to now, experiments evaluating the effect of phytonutrients on available energy considered only apparent metabolizable energy (AME). However, besides improved nutrients digestion and absorption, studies demonstrated that the enhanced performance is closely linked to changes in gut ecosystem. This could explain the inconsistency observed during trials looking at the effect of phytonutrients on AME. Studies suggest that net energy for production (NEp) is a more accurate parameter to establish the answer of broilers to phytonutrients supplementation (van der Klis et Kwakernaak, 2008). However, no data is currently available on the effect of these additives on NEp.

Consequently, the objective of this study was to evaluate the effects and relationships resulting from the supplementation of a standardized protected blend of carvacrol, cinnamaldehyde and capsicum oleoresin in terms of performance and energy utilization.

Experimental procedure

Two iso-energetic and iso-proteic diets were formulated, one based on corn and soya (52.9% corn, 31.3% soybean meal, 1% vegetable oil; 21.5% CP, 2897 kcal/kg ME, 3.4% fat), the other one based on wheat and soya (54.7% wheat, 27.5% soybean meal, 3.5% vegetable oil; 21.5% CP, 2895 kcal/kg ME, 4.7% fat). Each feed was then divided in two batches, and one of each was supplemented with 100 g/t of a standardized protected blend of carvacrol, cinnamaldehyde and capsicum oleoresin (XT, XTRACT[®] 6930, Pancosma). These 4 experimental diets were then distributed *ad libitum* to 400 male broilers (Ross 308), from 1 until 21 days of age. These dietary treatments were given according to a 2*2 factorial design, with 10 birds per floor pen, and 10 pens per treatment. All pens were bedded with used litter.

Growth performance data were collected at 21 days of age. At 21 days, one bird per pen having the closest weight to the average weight of its pen was transferred in one the 40 metabolic cages of assess AME and nutrients digestibility following a total collection during 3 days. Environmental conditions during this phase were similar to those occurring during the previous one. Two other birds, having the closest weights to the mean weight of their pens, were weighed and sacrificed by cervical dislocation at 21 days of age. A similar slaughtering technique was applied to determine the efficiency of AME retained in the carcass (ECr), net energy for production (NEp) and total heat production (HP – Pirgozliev et al., 2011).

Results were analyzed by ANOVA. An analysis of linear correlation was used to assess the relationship between AME and NEp, and growth performance of the animals. XT was used as a grouping factor.

Results and discussion

There was no interaction between the type of cereal and the presence of XT on any of the parameters recorded. The type of diet affected AME ($P < 0.05$). This is in accordance with the available literature reporting that broilers fed a wheat based diet exhibit a lower AME compared to those fed with corn (Amerah et al., 2008).

XT improved BWG by 6.1% and reduced FCR by 9.6% ($P < 0.05$, figure 1). These results are in accordance with the available data on the effect of this product (Bravo, 2009).

In addition, XT increased fat digestibility and AME (figure 2). Similar results were previously observed (Bravo et al., 2011). The effect of XT on fat digestibility is most probably related to the impact of capsicum oleoresin on bile secretions (Ganesh Bhat et al., 1984).

XT reduced HP by 132 kcal/kg ($P < 0.05$) and increased ECr and NEp, respectively by 129 and 136 kcal/kg (figure 3).

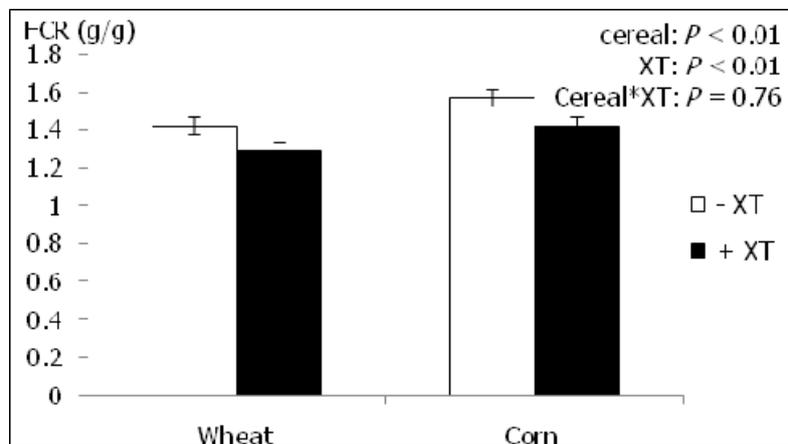


Figure 1: Effects of the treatments on broiler performance

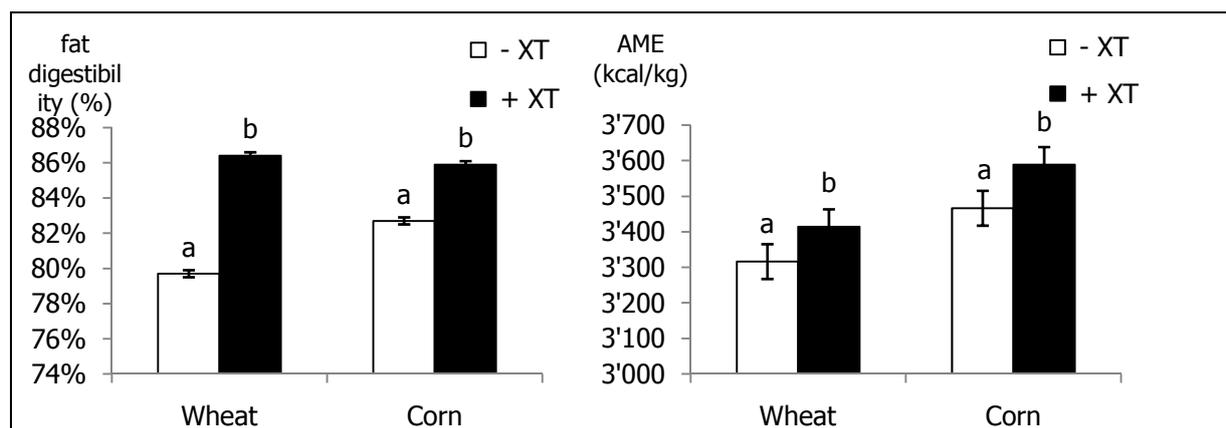


Figure 2: Effects of the treatments on fat digestibility and AME (a, b, $P < 0.05$)

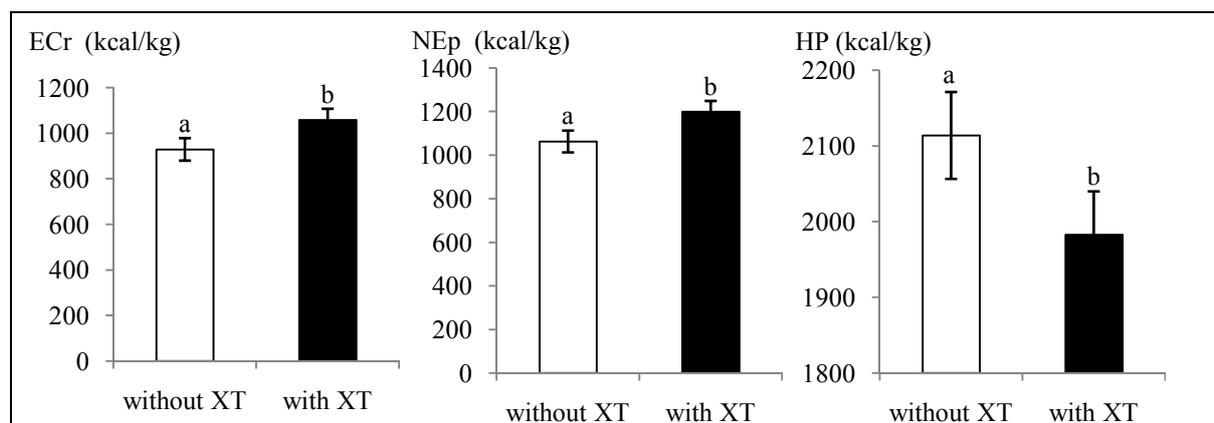


Figure 3: Effect of XT on ECr, NEp and HP (a, b, $P < 0.05$)

Finally, FCR was highly correlated with NEp ($P < 0.01$, $R^2 = 0.74$) but not with AME ($P > 0.05$). This suggests that NEp is a more adequate parameter to evaluate the response of broilers to phytonutrients supplementation.

The improvement of energy utilization enabled by XT can be related to the mode of action of its constituents. First, capsicum oleoresin is known to improve fat digestibility, which can explain the increased AME. Then, phytonutrients such as cinnamaldehyde and capsicum oleoresin have immunomodulating properties (Liu et al., 2012a, Lee et al., 2010, Lee et al. 2011). Consequently, these components improved the inflammatory status of the gut epithelium (Liu et al. 2012b), and optimize gut integrity (Jamroz et al. 2006). This enhancement of surface of absorption is most probably the second parameter explaining the enhanced EMA. However, this does not take into account the immunomodulating effect of XT. Immunity is known to be highly demanding in energy. Its optimization thanks to XT enables to reduce maintenance requirements. As a consequence, more energy is rendered available for production.

Conclusion

This study showed that XT improves metabolizable energy and reduces maintenance requirements of broilers. Consequently, the amount of energy available for production is increased, which induces a better feed efficiency.

References

- Amerah A.M., V. Ravindran, R. G. Lentle, and D. G. Thomas. 2008.. Poultry Science 87:2320–2328
- Bravo D. 2009. 17th European Symposium on Poultry Nutrition.
- Bravo D., Utterback P. and Parsons C.M. 2011. Journal of Applied Poultry Research 20:115-120.
- Ganesh Bhat B., Srinivasan, M.R. and Chandrasekhara N. 1984. Journal of food science and technology 21 (4): 225-227.
- Jamroz D., Wertelecki T., Houszka M. and Kamel C. 2006. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 90: 255-268.
- Lee S.H., Lillehoj H.S., Jang S.I., Kim D.K., Ionescu C. and Bravo D.. 2010. Journal of Poultry Science 47: 89-95.
- Lee S.H., Lillehoj H.S., Jang S.I., Lee K.W., Park M.S., Bravo D. and Lillehoj E.P. 2011. British Journal of Nutrition, 106: 862-869.
- Liu, Y., Song M., Che T.M., Bravo D., and Pettigrew J.E. 2012a. J. Anim Sci 90: 2774-2783

Liu Y., Song M., Soares J.A., Bravo D., Maddox C.M., Pettigrew J.E. and Oguey C.. 2012b. XIIth International Symposium on Digestive Physiology of Pigs.

Pirgozliev V., Bedford M.R., Acamovic T., Mares P. Et Allymehr M. 2011, British Poultry Science 52: 245-254

Van der Klis J.D., Kwakernaak C. 2008. Proceedings of the 6th Mid-Atlantic Nutrition Conference. pp. 98-102.

Corresponding author

Clémentine Oguey

PANCOSMA

Voie des Traz 6 ; 1218 Le Grand-Saconnex, Switerland

E-mail: clementine.oguey@pancosma.ch

Pioneering Animal Nutrition



Dr. Eckel geht voran. Mit Innovationen, die alles enthalten, was heute und morgen zählt: Wissenschaftliche Fundierung, verantwortungsvolle, nachhaltige Produktion und höchste Effizienz. Sprechen Sie uns an und erfahren Sie mehr über unsere Pionierarbeit in der Tierernährung und wie unsere Produkte auch Sie voranbringen. Wir freuen uns auf Sie!

Dr. Eckel goes ahead. With innovations which include everything that matters today and tomorrow: Scientific foundation, responsible, sustainable production and maximum efficiency. Contact us and learn more about our pioneering work in animal nutrition, and how our products will help you go ahead too. We look forward to seeing you!



Seien Sie dabei bei der Präsentation
unserer neusten Forschungsergebnisse.

Dr. Eckel GmbH, Postfach 20, D-56649 Niederzissen
Telefon +49 2636 9749-0, www.dr-eckel.de

BOKU
Innovationen



DR. ECKEL
creative solutions

Positive effects of a new phytogetic feed additive on broiler performance and microflora

Elisabeth Holl¹, Anne-Kathrin Blässe¹, Wilfried Vahjen² and Klaus Männer²

¹ Dr. Eckel GmbH, Niederzissen, DE

² Freie Universität Berlin, Institute of Animal Nutrition, Department of Veterinary Medicine, Berlin, DE

Introduction

Antimicrobial resistance occurring in zoonotic bacteria in animals and food can compromise the effective treatment of infectious diseases in humans. Therefore the EU launched a strategy to combat the threat of antimicrobial resistance by phasing out of antibiotics for non-medical use in animals. The consequences on animal performance and health as well as alternatives are a topic of interest when considering new ways to optimise animal production without their help. Several strategies have been introduced into animal production since the ban of antibiotics. In particular, phytogetic feed additives gain interest in pig and poultry nutrition since they are known for their pharmacological properties. Polyphenoles from grape seeds for instance have been shown to have anti-inflammatory effects (Gessner et. al., 2012). Based on this knowledge, the new phytogetic feed additive Anta[®]Phyt BLT, containing flavonoids from grape seeds and other secondary plant ingredients, has been developed.

Material and methods

In vitro: A screening study was conducted, where the effect of Anta[®]Phyt BLT on microbial population in the intestine of broiler chickens was tested compared to a negative control and the positive control Monensin. Concentrations of active ingredients of Anta[®]Phyt BLT were 4, 12, and 40 µg/ml. Inoculum for the simulation was fresh authentic ileal digesta from chickens raised on a commercial production farm. Fermentation was continued for 10 hours at 38 °C under anaerobic conditions. Lactic acid and volatile fatty acids were analysed by gas chromatography at the end of the simulation. The abundances of the target species were analysed by quantitative real time PCR (qPCR) using primers specific for the target bacteria. Two-tailed Student's t-test was used to compare average levels of each test treatment to negative control. Risk level of 0.05 was used for significance, but *p*-values between 0.05 and 0.10 were also reported as indicators of tendency.

In vivo: The feeding trial was conducted at the Freie Universität Berlin, with 320 broilers (Cobb) from day 1 to day 35. The birds were randomly allocated to two groups 4 h after hatching and were kept in fully air conditioned floor pens (2.5 m²) on wood shavings with 20 broilers per pen.

The birds were fed a starter feed for the first two weeks and after that a finishing feed until the end of the trial at 35 days of age (tables 1 and 2). The diet was based on maize and soy bean meal. The treatment group received the phytogetic feed additive Anta[®]Phyt BLT at a dosage of 400 g/t of feed.

Table 1: Starter feed (day 1 – 14)

Composition	Control	Treatment
Soybean meal (%)	34	34.14
Maize (%)	55.99	55.67
Soya oil (%)	5.40	5.62
Calcium carbonate (%)	1.48	1.04
MCP (%)	1.42	1.42
Premix (%)	1.20	1.20
Methionine (%)	0.26	0.26
Lysine (%)	0.13	0.13
Sodium chloride (%)	0.10	0.10
Threonine (%)	0.02	0.02
Anta [®] Phyt BLT (%)	0.00	0.04

Table 2: Grower feed (day 15 – 35)

Composition	Control	Treatment
Maize (%)	60.19	59.79
Soybean Meal (%)	28.43	28.50
Soya oil (%)	6.70	6.85
Calcium carbonate (%)	1.48	1.26
MCP (%)	1.38	1.38
Premix (%)	1.20	1.20
Methionine (%)	0.30	0.30
Lysine (%)	0.21	0.21
Threonine (%)	0.06	0.06
Sodium chloride (%)	0.05	0.05
Anta [®] Phyt BLT (%)	0.00	0.04

Chicks were weighed individually on day 1, 7, 14, 21 and 35. Feed intake per pen was measured weekly by determining initial weight of feed and feed rest as well as possible feed losses. Feed intake per chick and also feed conversion rate were calculated using average live weight gain per pen (including dead or culled animals). At the end of each feeding week, an aliquot of 5 litter samples per pen was analysed for dry matter content by weighing before and after freeze drying.

At day 35, faecal samples were taken from the rectum of 16 animals per treatment group. Bacterial DNA was extracted and analysed for specific rDNA sequences, using real time PCR. Differences between the two treatments were compared using Tukey's test. Probability values of 0.05 were considered significant.

Results *in vitro*

The active components of Anta[®]Phyt BLT showed a dose response and at 40 µg increased the production of acetic and propionic acid significantly while decreasing the production of lactic acid (figure 1).

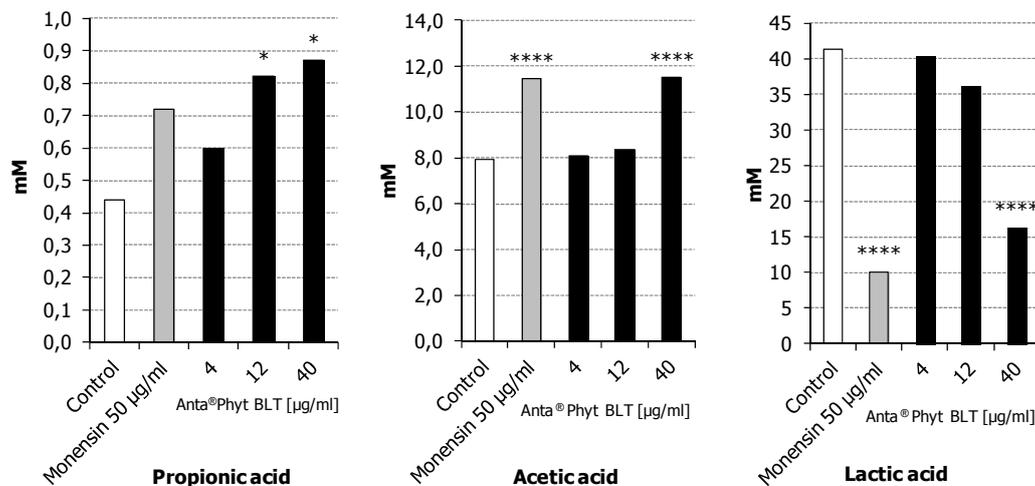


Figure 1: Effect of Anta®Phyt BLT on fermentation pattern in ileal digesta of broiler chickens

Results *in vivo*

In total, 8 animals died or were culled during the trial which means a mortality rate of 2.5 %. While feed intake was increased by 1.4 % in the treatment group, feed conversion (kg feed/kg live weight gain) was decreased by 2.1 %. Live weight gain was numerically improved on average by 3.6 % by using Anta®Phyt BLT. The positive effect was statistically significant during change from starter to finisher feed and in the first week of the finishing feed. The application of Anta®Phyt BLT also decreased moisture content in the litter significantly by 7.21 % (Figure 2).

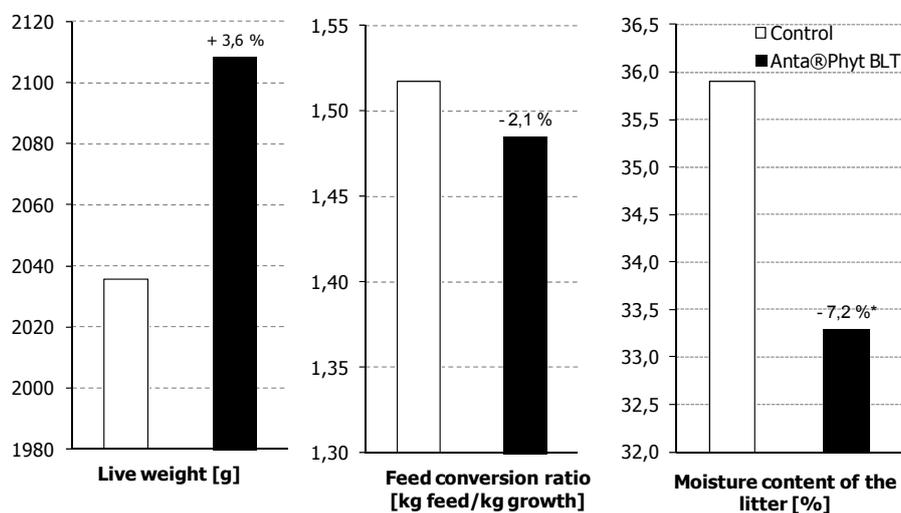


Figure 2: Effect of Anta®Phyt BLT on broiler performance and moisture content in the litter

Microbial analyses of the faeces showed a slight reduction in the microbial load for the analysed bacterial groups, which was significant for the group of bacteroides (log 10.69 vs log 8.66 for control and treatment group respectively).

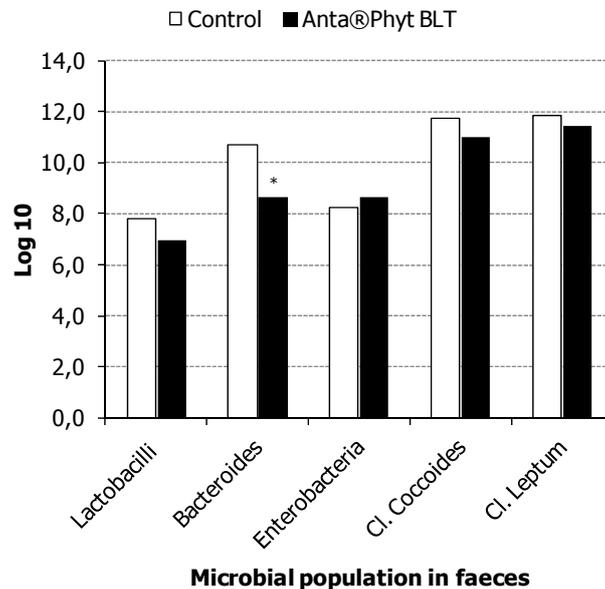


Figure 3: Effect of Anta®Phyt BLT on microbial population in broiler faeces

Discussion

The relationship between microbial community and its metabolism and animal performance is both complex and dynamic. The understanding on causal effects is still developing. Bacteria in the chicken small intestine utilise the same nutrients that are absorbed and metabolised by the host. Therefore, the reduced bacterial load in this section of the gastrointestinal tract and consequently the decreased competition for nutrients is believed to explain the mode of action of antibiotics in improving performance of the production animals (Dibner and Richards, 2005). The use of Monensin and other antibiotics for instance, was shown to decrease the total number of bacteria in the small intestine while at the same time increasing body weight gain and feed conversion (Apajalahti and Kettunen, 2006).

The effects of Anta®Phyt BLT *in vitro* and *in vivo* are consistent with these findings. The total number of bacteria in ileal chyme of broiler chicks was reduced by Monensin and Anta®Phyt BLT compared to the negative control (data not shown). This was due mainly to the decreased number of lactobacillus ssp. and, consequently, a shift from lactic acid production to propionic and acetic acid fermentation could be observed. Short chain fatty acids such as propionic, acetic and butyric acid are the major metabolites produced by bacteria in the anaerobic habitat such as the gastrointestinal tract. They contribute to the energy supply of the animal and stimulate gut epithelial proliferation. On the other hand, there is evidence that a high number of lactic acid producers in the ileum of chicken may be linked to poorer performance (Torok et al., 2011). The Monensin like effect of Anta®Phyt BLT on microbiota and fermentation pattern observed *in vitro* and the slight reduction of microbial flora in the faeces *in vivo* could therefore explain the improved weight gain and reduced feed conversion rate shown in the feeding trial. While the reduction was not significant the result may nonetheless be an indication for the antimicrobial activity of certain plant ingredients which may in turn have a positive effect on the birds by reducing competition for nutrients between host and microflora.

Modulation of the intestinal flora may also explain the favourable effect of feeding Anta®Phyt BLT on the moisture content of the litter. Wet litter is one of the causes of foot pad dermatitis and has been linked to intestinal health. By preventing dysbiosis and limiting inflammatory responses in the host

animal, the anti-inflammatory and antimicrobial properties of the plant based product Anta[®]Phyt BLT may be an interesting option to improve broiler production by natural means.

Conclusion

These results show that herbs or secondary plant ingredients, for instance in the combination Anta[®]Phyt BLT can selectively influence the microorganisms by an anti-microbial activity or by favourable stimulation of the eubiosis of the microflora. The consequence is a better nutrient utilisation and absorption and maybe also the stimulation of the immune system.

References

- Apajalahti J. and A. Kettunen (2006): Rational development of novel microbial modulators. In: Barug D., J. de Jong, A. K. Kies and M. W. A. Verstegen (eds) – Antimicrobial growth promoters. Where do we go from here? Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands, 165-181
- Dibner J. J. and J. D. Richards (2005): Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult. Sci.* 84, 634-643
- Gessner D., R. Ringseis, M. Siebers, J. Keller, J. Kloster, G. Wen and K. Eder (2012): Inhibition of the pro-inflammatory NF- κ B pathway by a grape seed and grape marc meal extract in intestinal epithelial cells. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 96, 1074-1083
- Torok V. A., R. J. Hughes, L. L. Mikkelsen, R. Perez-Maldonado, K. Balding, R. MacAlpine, N. J. Percy and K. Ophel-Keller (2011): identification and characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, No. 17, 5868-5878

Corresponding author

Elisabeth Holl
Dr. Eckel GmbH
Product Management and Development
Im Stiefelfeld 10; D-56651 Niederzissen
Phone +49 (0) 2636 9749 15
E-mail: e.holl@dr-eckel.de; www.dr-eckel.de

Effects of a phytogetic feed additive on performance and blood parameters in laying hens

Leopold Jungbauer and Karola R. Wendler

Delacon Biotechnik GmbH, Steyregg, AT

Introduction

In egg production feed costs are crucial and account for 60–70% of the total costs. Besides, for the profitability of egg production is the egg weight, egg mass produced per hen and the amount of sold eggs are deciding. Thus, optimization of layer nutrition and improvement in nutrient utilization are necessary to handle increasing raw material prices and improve performance. Phytogetic Feed Additives (PFA) like Biostrong® 510 (Delacon Biotechnik GmbH, Steyregg, Austria) can be added to diets to increase nutrient digestibility and thus, improve feed conversion and reduce feed costs. Biostrong® 510 has also been shown to reduce nitrogen excretion and ammonia emissions. Phytogetic feed additives are plant-derived products used in animal nutrition to improve performance and health (Windisch et al., 2008). PFA can contain variety of different raw materials like herbs and spices and extracts deriving thereof with a multiplicity of active 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 dietary application of essential oils, spices or combinations can stimulate the production and activity of digestive enzymes (Lee et al., 2003; Li et al., 2010; Platel and Srinivasan, 2000). It was also shown that PFA have positive effects on the absorption active surface in the gut by increasing villus height and decreasing crypt depth (Demir et al., 2003; Li et al., 2010). Aim of the current study was to evaluate the effects of a phytogetic feed additive on performance, blood parameters and profitability in layers.

Material and methods

A total of 90 Lohmann Brown layers were distributed to three dietary treatments. Each treatment was replicated 6 times with each 5 layers. Hens were selected from a pool of 270 according to age and body weight. Birds were housed from an age of 34 to 41 weeks in floor pens with softwood shavings. Lightning program was kept at 16 h light and 8 h dark per day through the whole experimental period.

Layers of the control group were fed a diet based on wheat, corn and soybean meal. Birds of treatment 1 (T1) and treatment 2 (T2) were fed the basal diet supplemented with the PFA at a dosage of 150 mg/kg and 1500 mg/kg, respectively. The tested product (Biostrong® 510, Delacon Biotechnik GmbH, Steyregg, Austria) is a combination of essential oils with specified concentrations of thymol & anethole), herbs and spices. Diets were formulated to meet nutrient recommendations given by the GFE (1999). Feed and water were *ad libitum* available. Calculated and analyzed dietary nutrient contents are given in Table 1.

Table 1: Calculated and analyzed dietary nutrient content

Nutritional characteristics	Calculated	Analyzed		
		Control	PFA 150	PFA 1500
MEn MJ/kg	11.0			
Crude Protein, g/kg	160	168	169	169
Lysine, g/kg	7.60	n.a.	n.a.	n.a.
Methionine, g/kg	3.40	n.a.	n.a.	n.a.
Methionine + Cystine, g/kg	6.30	n.a.	n.a.	n.a.
Threonine, g/kg	6.00	n.a.	n.a.	n.a.
Tryptophane, g/kg	1.80	n.a.	n.a.	n.a.
Crude Fiber, g/kg	30.6	31.6	32.0	32.1
Crude Fat, g/kg	32.4	30.1	29.5	30.2
Calcium, g/kg	34.3	34.9	34.8	35.1
Phosphorus, g/kg	5.00	4.9	4.9	4.9

On day one of the experiment and at the end of each following week body weight per pen and feed intake per pen were measured. Number of eggs, egg weight and percent of dirty eggs were recorded daily. Feed to egg mass ratio for each pen calculated per week based on feed consumption and egg mass production.

At the end of the experiment, blood samples of 12 hens per treatment were selected according to body weight for collecting blood samples. Samples were collected from the brachial vein into plain and heparin or EDTA containing tubes. Blood samples were analyzed for blood cell differentiation (erythrocytes, leukocytes and a differential haematogramm (lymphocytes, monocytes, eosinophiles, basophiles, neutrophiles) were measured.

Results are given as LSmeans \pm standard error. Data were statistically analyzed using the statistical software SAS. After checking the homogeneity of the variances, analysis of variance was performed (proc glm) and means were compared (Tukey test). The significance level was set at $P \leq 0.05$.

Results and discussion

Body weight gain over the 8 week trial period was slightly enhanced in birds fed 150 or 1500 mg/kg of the PFA by 20 and 26 g, respectively. The daily feed intake in hens of the control group was 122 ± 1 g per day. The addition of the PFA at both dosages didn't show any response on feed intake in laying hens.

Overall egg production was very high. During the 56 days laying hens of the control group produced in average 52.8 ± 1.1 eggs, which is corresponding to a laying rate of 94.3%. The additions of the PFA didn't show any significant differences to the control group. Birds fed 150 mg/kg diet of the PFA had a laying rate of 95.3% whereas birds fed 1500 mg/kg diet had a laying rate of 94.3% ($P=0.433$).

Average egg weight was numerically (150 mg/kg diet) or significantly (1,500 mg/kg diet) enhanced by 1.2% or 3.5% in hens fed the PFA when compared to hens of the control group ($P=0.014$). Results are shown in Figure 1. Overall egg mass production over the 8-week-feeding period averages of 3.33 kg per hen. The addition of 150 mg/kg diet of the PFA numerically increased egg mass by 2.2%, 1500 mg/kg diet of the PFA significantly increase egg mass per hen by 3.5% compared to the control.

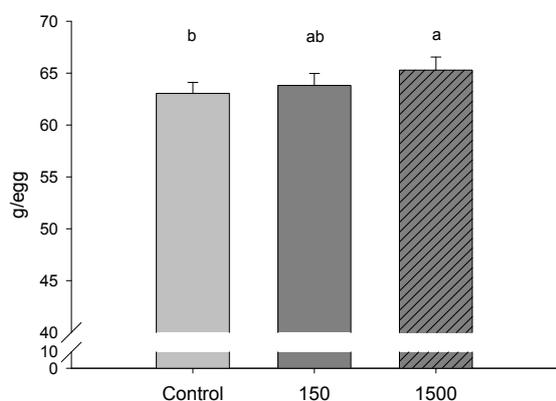


Figure 1: Effect of Biostrong® 510 at two different dosages on egg weight ($p=0.014$)

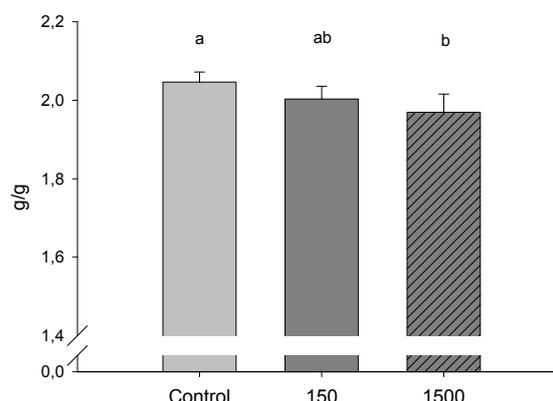


Figure 2: Effect of Biostrong® 510 at two different dosages on overall feed conversion ratio ($p=0.008$)

For hens fed the basal diet without PFA the average feed conversion rate over the 8-week-feeding period accounts for to 2.05 ± 2.05 . Benefit of PFA supplementations on feed conversion was significant when feeding hens the PFA at 1,500 mg/kg diet in comparison to hens fed without PFA (-4%). For hens fed the PFA at a dose of 150 mg/kg diet, FCR was numerically improved by 2.4% (Figure 2).

During the 56 days laying hens of the control group produced in average 52.8 ± 1.1 eggs, which is corresponding to a laying rate of 94.3%. The additions of the PFA didn't show any significant differences to the control group. Birds fed 150 mg/kg diet of the PFA had a laying rate of 95.3% whereas birds fed 1500 mg/kg diet had a laying rate of 94.3% ($p=0.433$).

Table 2: Effect of Biostrong® 510 at two different dosages different blood parameters in laying hens

Blood		Reference value*	Analyzed		
			Control	PFA 150	PFA 1500
<i>Blood cell Numbers</i>					
Erythrocytes	T/l	1.3 - 4.5	2.71 ± 0.21	2.80 ± 0.55	2.86 ± 0.68
Leukocytes	G/l	10 - 32.0	12.6 ± 1.8	12.5 ± 2.0	12.1 ± 1.7
<i>Differential Haematogram</i>					
Lymphocytes	%	29 - 84	46.9 ± 8.7	43.0 ± 7.0	43.8 ± 5.4
Monocytes	%	0 - 7	4.9 ± 3.5	1.8 ± 1.1	2.5 ± 1.0
Eosinophiles	%	0 - 16	1.3 ± 1.1	1.5 ± 1.6	1.0 ± 0.8
Basophiles	%	0 - 8	1.9 ± 1.4	2.3 ± 1.7	1.6 ± 0.9
Neutrophiles	%	10 - 30	44.9 ± 5.8	51.5 ± 7.4	51.1 ± 5.3

*Reference on request

Body weight of the selected hens was almost the same to that recorded for the respective treatment groups. Blood examination results were within the physiological range and did not reveal modifications of the health status of the hens. Therefore, the PFA not affect the blood constituents when adding to diets for hens over an 8-week-feeding period at the recommended (150 mg/kg diet) or tenfold dosage.

The economic evaluation of the presented results, based on a feed price of 298 €/t of feed and an egg sales price of 9.89 €/100 eggs shows that the addition of the PFA at a dosage of 150 mg/kg of diet reduces feed costs per 1000 eggs by 0.34 €. Due to a higher feed price of a 10fold inclusion of the PFA, reduction in feed costs per 1000 eggs accounts 0.14€.

Conclusion

Results of the present study show that the addition of the PFA improves performance, especially egg weight and mass as well as feed conversion rate in layers. Furthermore, the study shows that a 10 fold dosage of the PFA has no negative effects on performance and has no health relevant effects in layers. It can be concluded that the tested PFA Biostrong® 510 at a dosage of 150 mg/kg of diet improves performance and thus profitability in egg production.

References

- Demir, E., S. Sarica, M. A. Ozcan, and M. Suicmez. 2003. The use of natural feed additives as alternatives for an antibiotic growth promoter in broiler diets. *Brit Poul Sci* 44:Supplement, S44-Supplement, S45.
- Lee, K. W., H. Everts, H. J. Kappert, M. Frehner, R. Losa, and A. C. Beynen. 2003. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *Br. Poul. Sci.* 44:450-457.
- Li, K. H., H. H. Hsieh, L. Jungbauer, A. Mader, and S. Jolain. 2010. Effects of a Phytogetic Feed Additive on Growth Performance, GI Tract Morphology and Digestive Enzymes in Broilers. Page 410 in .
- Platel, K. and K. Srinivasan. 2000. Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. *Nahrung-Food* 44:42-46.
- Windisch, W., K. Schedle, C. Plitzner, and A. Kroismayr. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J Anim Sci* 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

The impact of medium chain fatty acids on the zootechnical parameters of suckling and weaned piglets

A. Jerešiūnas¹, O. Jerešiūnienė² and D. Tamašauskienė¹

¹ Marijampolės College, LT

² Public institution Abromiškės Rehabilitation Hospital, LT

Introduction

Feed and its quality have a great influence on piglets' productivity and their health. Feed constitutes approximately 70% of all animal breeding production expenses. Therefore, feed composition for piglets plays the leading economic role in pigs' breeding (Sudikas et al. 2011). Pig weaning is a strong and stressful factor which has a negative influence on both pigs' productivity and their immunity (Bailey, 2005; Bikker et al. 2006). The creation of optimal pig feeding conditions is recommended within this period. It is essentially important to feed pigs with easily digestible feed which has a positive influence on microflora. Normal intestine microflora of piglets influences their wellness, formation of immunity and resistance to infections (Lovatto et al. 2005). A few years ago the European Union banned antibiotics from farm animal feeds and thus some substitutes have to be found, especially for young animals (Anadón 2006). In Lithuania piglets are usually weaned at the age of 4 to 5 weeks (Jerešiūnas et al. 2007). At the time of weaning, young piglets are subjected to several stressors such as nutritional, environmental, social and microbial unbalance. As a result, low feed intake, impaired intestinal morphology and function, a high incidence of diarrhea and growth depression are commonly seen immediately after weaning. Therefore, weaning is regarded as the most critical period in a piglets' life. In order to avoid the problems with adjusting to a different diet after weaning, the diets with growth promoting feed additives are commonly applied in both the creep and weaned diet. The following feed additives are the most frequently used in Lithuania as growth-stimulating substances: enzymes, oxide of zinc, sulfate of copper, acidifiers, probiotics and prebiotics. Prebiotics and probiotics, alone or in combination (synbiotics), are the most popular potential alternatives for antibiotic growth promoters (Jerešiūnas et al. 2009). However, the development of alternative growth promoters is urgently needed in commercial pig production. One of the alternatives is the product based on medium chain fatty acids. MCFA is the abbreviation of Medium Chain Fatty Acids, being saturated fatty acids with a total chain length of either 6 (caproic acid), 8 (caprylic acid), 10 (capric acid) or 12 (lauric acid) carbon atoms. Medium chain fatty acids (MCFA) are another type of organic acids which could be considered as antibiotic substitutes; they have strong antibacterial activity against Gram-positive *Cocci* (Bergsson et al. 2001) and *Escherichia coli* (Skrivanová et al. 2009). Apart from this antimicrobial activity they can also improve postweaning gut development (Tang et al. 1999). Such positive changes (greater villus height) may result in improved performance parameters of piglets as it is shown in the study when piglets were fed with whole *Cuphea* seeds being a natural source of MCFA (Dierick et al. 2003). Several reports have evidenced that Aromabiotic decreased the invasion of *Salmonella* and mortality, and also has positive effects on weight gain and feed conversion ratio.

The purpose of our experiment was to establish the impact of feed additive Aromabiotic 3 kg /t on the growth rate of the suckling and weaning piglets, on the feed intake and feed consumption per one 1 kg gain and to calculate the economic effect on the use of this additive.

Material and methods

The experiment was conducted in the year 2012 in industrial pig farm, in which up to 24 000 fattening pigs are raised annually. The trial was performed with the mixed German Yorkshire, Norwegian Land-races and Duroc breed piglets in order to evaluate the influence of investigative Medium chain Fatty Acids (MCFA) on zootechnical parameters of piglets. Piglets were divided into two groups according to the same principle.

Two groups were selected and formed. There were 6 sows in each group. There were 70 piglets in the first (control) group and 69 piglets in the second (experimental) group. The piglets were weaned being 33 days old. The experiment consisted two periods – the period of suckling and the period following the weaning. In the course of whole experiment the piglets were feed with prestarter and starter compound feeds.

The piglets were given the complete compound feeds, the composition and feeding value of which are presented in Table 1. While composing the recipes of compound feeds, computer programme "Hybrimin Futter 2008" was applied. The data of this programme nutritive value of feeds were gained from the literature (NRC 1998). The energy amount of compound feeds was calculated according to the formulas (Jeroch et al. 2004).

Table 1: Biochemical composition and nutritive value of feeds

Ingredients, %	Prestarter compound feed for piglets before 15 kg weight	Starter compound feed for piglets of 15-30 kg weight
Wheat	20.0	25.0
Barley	38.04	39.44
Soya meal	4.0	10.0
Fullfat soya (heat treatment)	10.0	7.0
Fish meal	10.0	7.0
Rape (canola) oil	2.0	2.0
Whey meal	12.5	6.0
Monocalciumphosphat	0.7	-
Limestone	0.5	0.4
Salt	0.1	0.1
Zinc oxide	0.36	0.36
Feed additive Bio Plus 2B	0.3	-
Feed additive Micobond	-	0.2
Feed additive Link Phytase	1.5	2.5
Calculated analysis / kg feed:		
Metabolizable energy, MJ	13.57	13.54
Crude protein, %	19.99	19.81
Crude fibre, %	3.47	3.70
Crude fat, %	5.95	5.31
Calcium, %	1.07	0.89
Phosphorus, %	0.8	0.59
Sodium, %	0.26	0.20
Lysine, %	1.47	1.57
Methionine, %	0.45	0.46
Threonine, %	0.91	0.95
Tryptophan, %	0.25	0.25

The piglets of the second group got complete compound feeds with 3 kg/t MCFA additives. MCAF feed additive was Aromabiotic.

Aromabiotic is the product of Holland Company Pricor b.v. The feed additive Aromabiotic consists of medium length fatty acids and has an antimicrobial effect. Therefore, its use in prestarter and starter feeds reduces piglet's mortality rate and increases zootechnical results.

During the period since 4 days old and till the weaning, the piglets were fed with prestarter feed. In the course of experiment 70 and 69 piglets of each group were weaned. Piglets of both groups were weaned and moved to the breeding cote. In each group two folds of the weaned piglets (each consisting of 30-35 pigs) were formed. During the next 14 days after weaning the piglets were fed with pre-starter compound feed. Later, till the end of the experiment, piglets of the control and experimental groups were fed with the starter compound feed. The experiment was conducted during 82 days.

In the course of experiment the piglets of both groups were fully fed from automatic feeders with the dry powder compound feed. Automatic separate water-troughs were applied in order to get enough water. Every stall was equipped with one automatic water-trough and feeder.

The data received in during the conducted research (for exception of the indexes of chemical feed composition and consumption) was processed with the methods of statistical analysis. The results were subjected to statistical processing using the WinExcel program. The arithmetic average values (\bar{x}) and standard error of the means (SE) were calculated for all data and were presented in tables (Juozaityienė and Kerzienė 2001). Experimental average values (\bar{x}) were tested using Student's t-test. Statistical differences among means ($p < 0.05$) are indicated with superscript (*).

Results and discussion

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

After the weaning the course of experiment was conditionally divided into two periods. The first period lasted for 14 days after the weaned time. The second period lasted for 35 days after the weaned time. The growing of piglets during these periods is presented in the Table 2.

Table 2: Growth rate of pigs

Item	Group 1 (Control) $\bar{x} \pm se$	Group 2 (Experimental) $\bar{x} \pm se$
Average weight of piglets. kg		
at the start	1.08±0.05	1.08±0.22
at the weaned	9.68±0.6	9.51±0.72
14 days after weaned	13.23±1.0	13.07±1.01
at the end	32.98±1.4	33.53±1.31
Average daily gain. g:		
during suckling period	317±14.0	312±19.0
first 14 days after weaned	242±20.0	289±14.4*
last 35 days during weaned period	559±25.1	573±19.4
during the whole trial	392±31.2	399±37.5

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

The results of the test show that MCFA had a significant positive influence on piglets' growing during the after-weaned period (the first 14 days after weaning). It was determined that during this period the piglets of the second group getting the tested MCFA every twenty-four hours increased in weight approx. 19.4 % ($P < 0.05$) more than the piglets of the control group. Similar tendency remained during the second test after the weaned period. It was stated that during the second test after the

weaned period the piglets of the second group getting the tested MCFA every day increased in weight approx. 2.5 % ($P>0.05$) more than the piglets of the control group; but during the suckling and whole test periods the tested MSFA supplement did not have any significant influence. It was determined that during the suckling period the piglets of the first control group that did not get the tested MCFA increased in weight 1.6 % ($P>0.05$) in comparison with the piglets of the second group. The same non-significant results remained during the whole test period when the piglets of the first control group decreased in weight 1.8 % ($P>0.05$) less than the piglets of the test group.

Such results of piglets' growing may be explained by the fact that the tested MCFA have significant positive influence on the growing of piglets during the weaned moment and short time after that.

The same results proving that MCFA supplements have the greatest effect on the growing of weaning piglets and that MCFA are the most effective for the piglets at the moment of weaning were also achieved by other authors (Dierick et al. 2003. Lovatto et al. 2005).

In the course of the experiment it was determined that MCFA additive had a significant effect on feed intake during the period of 14 days after weaning (Table 3). In that period the piglets of group II consumed daily 3.2 % more than piglets from group I. During the suckling period MCFA additive did not have any material impact on the feed intake. MCFA additive also did not have any significant impact on the weaned and growing piglets during growth.

The results of the experiment evidenced that the improvement of feed intake when using MCFA additive during the first 14 days after the weaning influenced the growth of piglets. The growth of piglets of group II was the quickest during that period.

Table 3: Compound feed intake kg/pig/day

Parameters	Group I (Control)	Group II (Experimental)
During suckling period	0.113	0.112
First 14 days after weaned	0.467	0.482
Last 35 days during weaned period	0.996	0.983

The calculating of compound feed consumption per 1 kg overweight stated that MCFA additive did not have any significant influence neither during the suckling period nor during the later period of piglets' growing. However, it was stated that the MCFA additive reduced the consumption of compound feed per 1 kg overweight during the period of the first 14 days after weaning. It was stated, that during the first two weeks after weaning the MCFA additive reduced the consumption of compound feed per 1 kg overweight in 13.2 %. The consumption of the compound feed per kg gain is presented in Table 4.

Table 4: Compound feed consumption per kg gain kg

Parameters	Group I (Control)	Group II (Experimental)
During suckling period	0.411	0.415
First 14 days after weaned	1.923	1.669
Last 35 days during weaned period	1.781	1.716

Some scientists have also estimated significant effect of MCFA on the feed consumption per kg gain in their works (Dierick et al. 2003. Lovatto et al. 2005).

The results of the experiment show that MCFA additive is the most effective during the weaning period of piglets. It can be assumed that the weaning causes the stress for piglets. The weaning stress

can result in reduced feed intake, productivity and increased consumption of compound feed. (Jerešiūnas et al. 2007). The use of MCFA during the period after piglets' weaning showed the maximum impact of this additive on the piglets' zootechnical indicators.

After calculating the economic benefit of use of compound feed with MCFA (Table 5), it was stated that the price of one ton of compound feed with that additive increased in 8.7 Euro. Such rising cost of the feed is economically beneficial. The results of the experiment show that during the suckling period the consumption of compound feed per kg gain (in kilograms) by piglets from the second group costs 2 Euro cents more than the one from the first group. The using of MCFA after the piglets' weaning is economically more beneficial.

Therefore, during the first two weeks after weaning, one kilogram of overweight of the piglets from the second group costs 12.1 % less than the one of the piglets from the first group.

Table 5: Price of 1 kg piglets overweight Euro

Parameters	Group I (Control)	Group II (Experimental)
During suckling period	0.86	0.88
First 14 days after weaned	4.04	3.55
Last 35 days during weaned period	2.94	2.88

During the further growing period such positive tendency decreases. Therefore, one can confirm that in order to apply profitably the feeding of MCFA with Aromabiotic additive, it is necessary to use it during piglets' weaning period, when they feel stress. In two weeks after the weaning, the use of this feed additive does not have any significant economic effect.

Conclusion

Compound feed containing 3 kg of MCFA per ton and including the Aromabiotic feed additive improves piglets' health state – no diarrhoea cases were reported.

Feeding stuffs with MCFA improves pigs' growth – during the weaning period the higher daily weight gain was reported.

The influence of feeding stuffs with MCFA on feed consumption was also determined during the weaning period.

We recommend adding a dose of 3 kg/t MCFA including Aromabiotic feed additive to piglets' diets and feeding the piglets with such feed stuffs during two weeks after weaning.

Acknowledgement

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

References

- Anadón A. (2006). The EU ban of antibiotics as feed additives: alternatives and consumer safety. *J. Vet. Pharm. Therap.* 29: 41–44.
- Bailey M., Haverson K., Inman C., Harris C., Jones P., Corfield G., Miller B., Stokes C. (2005). The development of the mucosal immune system pre- and post-weaning: balancing regulatory and effector function. *Proc. Nutr. Soc.* 64: 451–457.

- Bergsson G., Arnfinnsson J., Steingrímsson O., Thormar H. (2001). Killing of Grampositive cocci by fatty acids and monoglycerides. *APMIS*. 109: 670–678.
- Bikker P., Dirkzwager A., Fledderus J., Trevisi P., leHuërou – Luron I., Lallès J.P., Awati A. (2006). The effect of dietary protein and fermentable carbohydrates levels on growth performance and intestinal characteristics in newly weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 84: 3337–3345.
- Dierick N.A., Decuyper J.A., Degeyter I. (2003). The combined use of whole *Cuphea* seeds containing medium chain fatty acids and an exogenous lipase in piglet nutrition. *Arch. Tierernähr.* 57: 49–63.
- Jerešiūnas A., Šiugždaitė J., Stankevičius R. Feed composition influence for productivity and mikroflora of weaned piglets. *Veterinary and zootechnic*. ISSN 1392-2130. Kaunas 2007. P 63-64.
- Jerešiūnas A., Kulpys J., Sudikas G., Jerešiūnienė O. Comparable assessment of the alternative zinc oxide growth promoters, organic acids and probiotics in the rations of weaned piglets // Tagungsband 8. BOKU-Symposium Tierernährung „Mineralstoffe in der Tierernährung Leistung – Gesundheit - Umweltschutz“ ISBN-978-3-900962-70-8. Wien. Boku. 2009. P. 184-187.
- Jeroch H., Šeškevičienė J., Kulpys J. Žemės ūkio gyvulių ir paukščių mitybos fiziologinės reikmės (Nutrient requirement for agricultural animals). Kaunas. 2004. S. 158.
- Juozaitytė V., Kerzienė S. (2001): Biometrija ir kompiuterinė duomenų analizė (Biometric and computer data analyses). Kaunas. 114.
- Lovatto P. A., Oliveira V., Hauptli I., Hauschild I., Cazarre M. (2005): Feeding of piglets in post weaning with diets without microbial additives, with garlic or colistin. *Ciencia Rural*. Vol. 35. N. 3. 656–659.
- Nutrient Requirements of Swine. National Academy of Sciences. 1998. P. 597.
- Skrivanová E., Molatová Z., Skrivanov á V., Marounek M. (2009). Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O128. *Vet. Microbiol.* 135: 358–362
- Sudikas G., Juškienė V., Leikus R., Kulpys J., Jerešiūnas A., Norvilienė J., Sudikienė K. The influence of probiotics for the wellness and growth intensity of wean piglets. *Veterinary and zootechnics*. 2011. 55 (77) tome. P 65-71.
- Tang M., Laarveld B., Van Kessel A.G., Hamilton D.L., Estrada A., Patience J.F. (1999). Effect of segregated early weaning on postweaning small intestinal development in pigs. *J. Anim. Sci.* 77: 3191–3200.

Corresponding author

Dr. Andrejus Jerešiūnas
Marijampolės College
Catering and Agricultural Technologies Department
P. Armino street 92. Marijampolė LT-68125
E-mail: andrejus_jeresiunas@yahoo.com

Direkte Applikation einer thermostabilen Xylanase direkt in den Chargenmischer

Petra Philipps¹, Paul Steen¹, Natachnok Amonthewaphat¹ und Imke Kühn²

¹ AB Vista, Marlborough, UK

² AB Vista, Darmstadt, DE

Einleitung

Das Aufsprühen flüssiger Futtermittelenzyme nach der Pelletierung (PPLA – Post-Pellet-Liquid-Applikation) ist eine etablierte Technologie in der Mischfutterproduktion. Bei der Dosierung von Enzymen vor der Pelletierung (MLA – Mixer Liquid Application) werden hohe Anforderungen an die Thermostabilität gestellt bei Prozesstemperaturen von bis zu über 95°C. Dabei werden hierzu trockene, z.T. gecoatete Enzymprodukte eingemischt. Eine direkte Applikation in den Chargenmischer ist im Hinblick auf Investitionen wesentlich einfacher und kostengünstiger, scheidet aber für die meisten Flüssigenzyme aufgrund mangelnder Thermostabilität aus. In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse von zwei Versuchen dargestellt und diskutiert, bei der eine intrinsisch thermostabile Endo-1-4-beta-Xylanase (Econase[®] XT, EC 3.2.1.8) in flüssiger Form direkt in den Chargenmischer appliziert wurde.

Material und Methoden

Versuch 1

Dieser experimentelle Pelletierversuch wurde im Forschungsinstitut Futtermitteltechnik der IFF (Feil 2009) durchgeführt. Hierzu wurde eine intrinsisch thermostabile Endo-1-4-beta-Xylanase (EC 3.2.1.8) sowohl in trockener als auch flüssiger Form direkt in den Chargenmischer zu einem Broilerfutter basierend auf Weizen und Mais (Tabelle 1) in ca. siebenfacher Menge der empfohlenen Dosierung appliziert um den relativen Einfluss nativer Enzymgehalte im Basisfutter zu reduzieren (Steen and Santos, 2009). Der Versuch wurde in 6 Behandlungen unterteilt mit zwei Enzym-Produktformen (flüssig, puderförmig) und 3 Zielwerten für Prozesstemperaturen von je 75 °C, 85 °C und 95 °C. Das Enzymprodukt wurde in einer Dosierung von 1000 g/t jeweils 500kg dieser Mischung zugegeben in einen Bühler-Mischer mit einer totalen Mischzeit von 3 Minuten. Die Pelletierkapazität der Versuchsanlage betrug 1t/h. Das trockene Enzymprodukt wurde manuell zugesetzt und das flüssige Produkt wurde über 30 Sekunden durch zwei Ein-Komponenten-Düsen aufgesprüht.

Für die beiden niedrigeren Pelletiertemperaturen wurde das Mehlfutter auf die Zieltemperatur durch Anpassung der Dampfzufuhr im Konditionierer aufgeheizt. Um die Ziel-Pelletiertemperatur von 95 °C zu erreichen, wurde das Mehl mittels Druck-Konditionierung in einem Expander aufgeheizt. Die Konditionierung betrug ca. 10-12 Sekunden bei der Zieltemperatur. Zur anschließenden Pelletierung wurde eine 3mm x 60mm Bühler Ring-Matrize benutzt. Nach der Pelletierung wurden die Pellets über 10 Minuten in einem Bandkühler auf 14-15°C heruntergekühlt. Vier repräsentative Proben wurden jeweils vom Mehl und Pelletfutter gezogen und auf Xylanaseaktivität untersucht.

Die Bestimmung der Endo-Xylanaseaktivität erfolgte im Labor ESC in Wales, UK. Eine Einheit BXU ist definiert als die Enzym-Quantität die 0,06 Micromol reduzierende Zucker aus Xylanen von *Betula alba* pro Minute freisetzt bei einem pH von 5,3 und einer Temperatur von 50°C.

Versuch 2

In einer weiteren Studie (Amonthewaphat, N. et al. 2012) in einer kommerziellen Futtermühle unter Praxisbedingungen wurden zunächst 5 Kontrollchargen von jeweils 6t eines auf Mais basierenden Broilerfutters produziert, gefolgt von 10 Chargen mit Applikation der Standarddosierung von 100 g/t der flüssigen Xylanase in einer Verdünnung mit Wasser von 1:19 direkt aufgesprüht in den Chargenmischer. Alle Futterchargen wurden bei 90°C konditioniert und dann über 30s bei 107-110°C expandiert. Die Temperatur wurde unmittelbar an der Matrize gemessen. Aus jeder Charge wurden Proben gezogen vom Mehlfutter vor der Konditionierung, und nach Konditionierung jeweils vor und nach der Pelletsiebung und die Xylanaseaktivität wie bei Versuch 1 beschrieben bestimmt. Weiterhin wurden jeweils 10 Proben der fünften Futtercharge mit Enzymsupplementation auf Xylanaseaktivität untersucht, um die Homogenität der Verteilung des Enzymproduktes zu bestimmen.

Ergebnisse

Versuch 1 (Tabelle 2, Abbildung 1)

Die unmittelbar vor der Pelletierung im Mehlfutter gemessene Temperatur lag bei 67°C, 83°C and 95°C um Pelletiertemperaturen von jeweils 75°C, 85°C and 95°C, zu erreichen. In den Kontrollfuttern ohne Enzymsupplementation wurde jeweils eine sehr geringe Xylanaseaktivität von unter 2000 BXU/kg ermittelt. Tabelle 2 zeigt die analysierten Xylanaseaktivitäten in den Futterproben aus den verschiedenen Behandlungen. Die Variationskoeffizienten lagen bei der Flüssigapplikation bei 3.5 und bei der Trockenapplikation bei 5%. Abbildung 1 zeigt die relative Wiederfindung des Enzymes im Vergleich zum Initialgehalt im Mehlfutter. Bei der Flüssigapplikation lag die Wiederfindung des Enzymes unabhängig von den jeweiligen Prozesstemperaturen bei 90% (Abbildung 1). Bei der Trockenapplikation wurden keine Verluste ermittelt.

Versuch 2 (Abbildungen 2 und 3)

Die Temperatur lag für alle Chargen bei 94-96°C unmittelbar an der Matrize gemessen. Die nativen Xylanaseaktivitäten im Basisfutter lagen im Mittel aus fünf Proben bei 740 BXU/kg im Mehlfutter und bei 1180 BXU/kg nach der Pelletierung. Im Mittel betrug die Xylanaseaktivität in 10 nacheinander produzierten Futterchargen im Mehlfutter nach dem Aufsprühen 20600 BXU/kg mit einem Variationskoeffizienten von 7% und nach der Pelletierung 18490 BXU/kg mit einem Variationskoeffizienten von 2% (Abbildung 2). Die relative Wiederfindung des Enzymes im Pelletfutter betrug im Schnitt 90% des Gehaltes im Mehlfutter und 106% relativ zum Zielwert der Standarddosierung. In der fünften Charge wurde in 10 Einzelproben ein Variationskoeffizient für die Xylanaseaktivität von 5% ermittelt (Abbildung 3).

Tabelle 1: Futterzusammensetzung des Basisfutters im Versuch 1

Inhaltsstoff	Anteil in %
Weizen	39,4
Mais	28,5
Sojaextraktionsschrot	25,9
Sojaöl	3,0
Calcium-Sodium-Phosphat	1,0
Calciumcarbonat	0,65
Monocalciumphosphat	0,30
Premix ¹	1,25

¹Aminosäuren, Vitamine, Spurenelemente

Tabelle 2: Xylanaseaktivitäten im Futter zu verschiedenen Probennahmezeitpunkten und Prozess-temperaturen, Mittelwert (BXU/kg, n=4) und Variationskoeffizient (CV, %) in Versuch 1

Probennahme	Temperatur	Xylanase Flüssigapplikation		Xylanase Trockenapplikation	
		BXU/kg	CV	BXU/kg	CV
Vor Konditionierung	75°C	185275	5,41	127023	10,1
	85°C	181952	4,92	126946	0,53
	95°C	189127	3,87	128329	7,45
Nach Konditionierung	75°C	160239	4,86	119338	4,72
	85°C	157121	2,60	125147	6,23
	95°C	168327	2,16	109783	6,10
Nach Kühlung	75°C	172026	1,17	138380	3,11
	85°C	177773	4,07	141277	5,23
	95°C	162759	3,77	128746	3,70

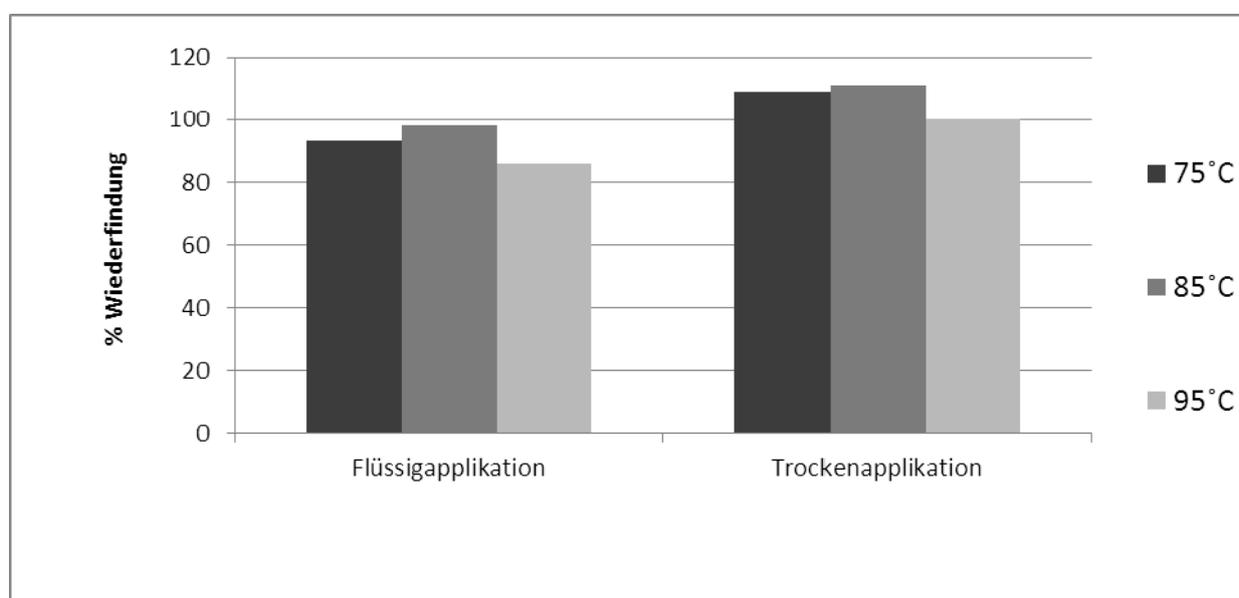


Abbildung 1: Wiederfindung der Xylanaseaktivität in den Behandlungen (Versuch 1)

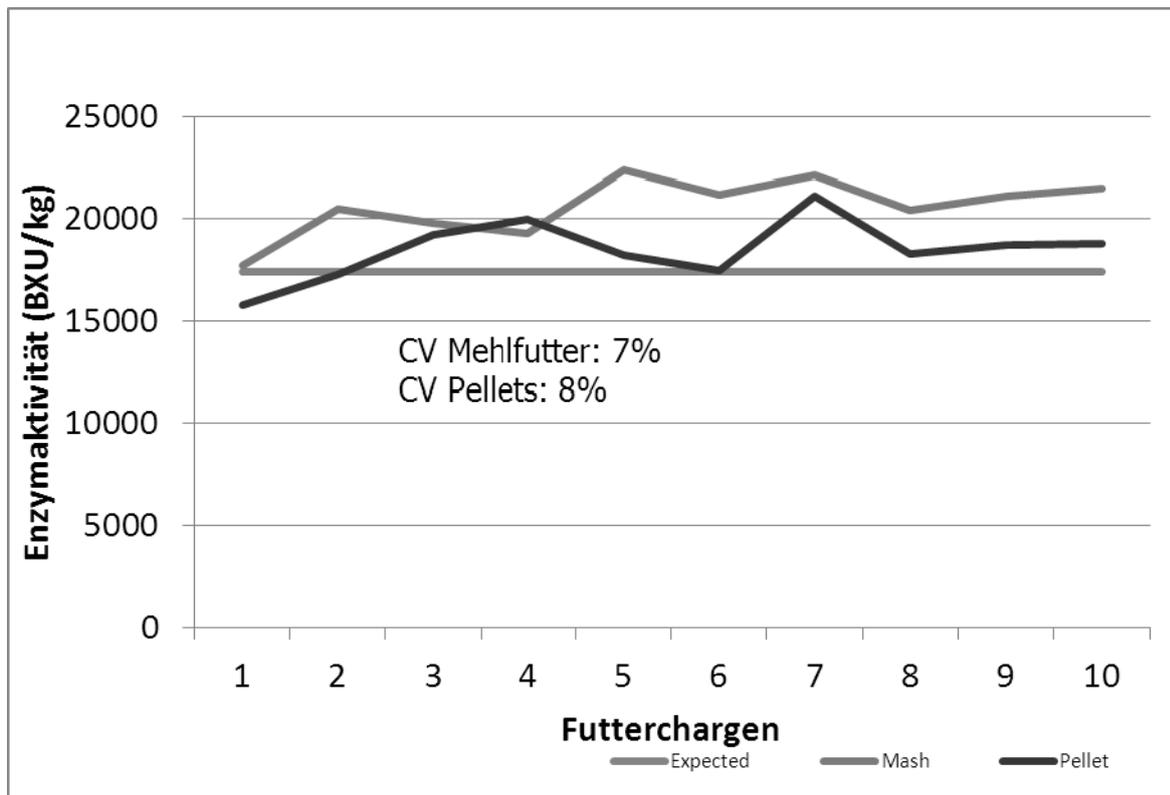


Abbildung 2: Enzymaktivitäten in 10 Futterchargen aus Versuch 2

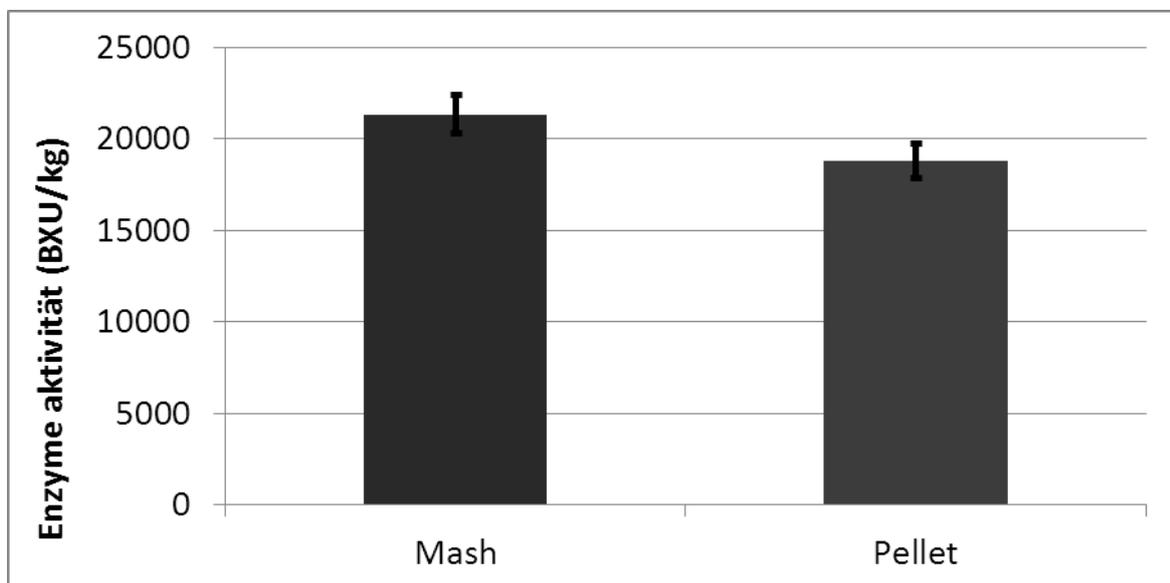


Abbildung 3: Xylanaseaktivität in 10 Proben aus der fünften Charge

Diskussion

Anhand der beiden vorliegenden Studien konnte nachgewiesen werden, dass das flüssige Enzymprodukt gute Wiederfindungen zeigt, selbst wenn man das Produkt direkt in den Mischer appliziert und somit nicht wie zumeist üblich, erst nach erfolgter Pelletierung aufsprüht. Im ersten Versuch haben sich keine Nachteile gegenüber der Verwendung eines trockenen Enzymproduktes ergeben. Die Ergebnisse des ersten Versuchs wurden im Praxisversuch bei Standarddosierung der Xylanase und bei sehr hohen Prozesstemperaturen (Expansion) bestätigt. Diese Technik bietet dem Futterhersteller den Vorteil, dass solche Installationen mit einem geringeren Investitionsaufwand zu bewerkstelligen sind als eine Post-Pellet-Applikation.

Schlussfolgerungen

Die beiden vorliegenden Studien zeigen, dass eine Flüssigapplikation mit der intrinsisch thermostabilen Xylanase direkt in den Chargenmischer möglich ist selbst bei sehr hohen Prozesstemperaturen. Diese Technologie bietet dem Futterhersteller Vorteile in punkto Ökonomie und Qualität aufgrund der wesentlich einfacheren Installation im Vergleich zur standardmäßigen Post-Pelleting-Liquid-Applikation von Enzymen im Hinblick auf Investitionskosten, Prozesskosten, Homogenität sowie Flexibilität in der Anwendung.

Literatur

Amonthewaphat, N., Santos dos T. and Steen, P. (2012): Internal Report 004, AB Vista, Marlborough, UK

Feil, A. (2009): Tests on the stability of enzymes in pelted broiler feed sprayed into the mixer and respectively mixed into the feed before pelleting. IFF Technical Test Report 2.253, Braunschweig, Germany

Steen, P., Santos dos T. (2009): Internal Report 003, AB Vista, Marlborough, UK

Autorenanschrift

Dr. Petra Philipps
AB Vista
3 Woodstock Court, Blenheim Road, Marlborough Business Park
Marlborough, Wiltshire, SN8 4AN, UK
E-Mail: petra.philipps@abvista.com

Effects of xylanase in an *in vitro* digestion model for chicken

Elisabeth Mader, Cornelia Schauerhuber, Martin Pfeffer and Gerd Schatzmayr

BIOMIN Research Center, Technopark 1, 3430 Tulln, AT

Introduction

Animals need different enzymes for digesting feed. Digestive enzymes are produced by themselves or by intestinal microbes. Chicken cannot digest all components of feed as it contains anti-nutritional factors (ANFs). A major part of these ANFs are non-starch polysaccharides (NSPs), such as arabinoxylans and β -glucans. NSPs possess an anti-nutritive effect for chicken by increasing the intestinal viscosity. The intestinal viscosity is a major factor that limits bird performance and much attention has to be paid on it (Bedford and Morgan, 1996). An increased viscosity results in a reduced passage rate of the digesta and contributes negatively to the intestinal absorption of nutrients. This leads to a reduced feed intake and causes poor animal performance and feed conversion of birds fed on wheat-based diets. The anti-nutritive effect of viscous, water-soluble arabinoxylans can be avoided by adding the fiber-degrading enzyme xylanase to the feed. Xylanase catalyzes the hydrolysis of xylans and decreases the intestinal viscosity. For the prediction of the intestinal viscosity, an *in vitro* model could serve as a useful and rapid screening tool for potentially effective enzyme preparations. The aim was to demonstrate the viscosity reducing effect of xylanase in an established *in vitro* digestion model for chicken.

Materials and methods

The *in vitro* digestion model was developed according to Lan *et al.* (2010) and included three digestion stages: crop, stomach and small intestine. A wheat based broiler diet was mixed with different buffers containing digestive enzymes to simulate the digestion stages and respective pH values (Table 1).

Table 1: Experimental setup for the *in vitro* model simulating digestion

Digestion stage	Experimental setup
Crop	Hydration of 10 g broiler diet with 15 ml 0.1 M acetate buffer (pH 5.0)
Stomach	Adjusting the pH to 2.5 by adding 2.6 ml 0.1 M acetate buffer containing 54.6 mg pepsin (Sigma-Aldrich, Vienna, Austria) and 4.2 ml 1.6 M HCl
Small intestine	Addition of 2.26 ml 1.0 M NaHCO ₃ containing 48.10 mg pancreatin (Merck, Vienna, Austria) and 2 ml 2.0 M NaOH, adjusting pH to 6.0

The approach was done in 100 ml glass bottles, which were incubated at 40 °C in a water bath, placed on a magnetic stirrer under constant stirring (250 rpm). The passage time was defined for each digestion stage (crop 30 min, stomach 45 min, small intestine 60 min). An endo-1,4- β -xylanase sample originated from *Trichoderma longibrachiatum* (Sigma-Aldrich, Vienna, Austria) was added in two different concentrations (1 U/g broiler diet and 10 U/g broiler diet). The xylanase activity of the sample was defined as 9,100 U/g at 30 °C and pH 4.5. The respective test concentration was prepared by diluting the enzyme sample with a 0.1 M acetate buffer, pH 4.7. The dissolved xylanase

sample was then added to the broiler diet in the digestion stage crop as part of the hydrating buffer. An approach without xylanase served as negative control.

Xylanase activity was determined after each digestion stage using the Xylazyme AX test kit (Megazyme International, Ireland). The used substrate was an azurine-dyed and crosslinked wheat arabinoxylan. Hydrolysis by *endo*-1,4- β -D-xylanase produced water soluble dyed fragments. The release of these fragments caused an increase in absorbance at 590 nm that was related directly to enzyme activity. After simulating the respective digestion stage, the whole mash was transferred into centrifuge tubes and centrifuged ($17,700 \times g$ at 4 °C for 15 min). An aliquot of the supernatant was taken and used for the measurement of xylanase. Extraction, assay procedure and calculation of xylanase activity were done according to the data booklet of the test kit. The obtained value resulted in the specific activity in the aliquot of the supernatant. The activity was then converted to the activity per digestion stage. Xylanase activity was only determined of samples containing 1 U/g broiler diet.

The viscosity measurement was performed after completed digestion (small intestine) using a viscosimeter equipped with a concentric cylinder system (Rheometer Rheolab MC100, concentric cylinder Z 3 DIN, Physica, Germany). After the final digestion stage, the glass bottles were taken out of the water bath and stored on ice to ensure no further enzyme reactions until the viscosity measurement was performed. The mash was then poured into the sample vessel and the vessel was placed in the viscosimeter. The cylinder was attached and put down into the mash, the measurement was started. Table 2 shows the parameters for the viscosity measurement.

Table 2: Setting for determining viscosity

Parameter	Setting
Measuring system	Concentric cylinder Z 3 DIN
Sample state	Mash (no sample preparation)
Sample volume	15 ml
Temperature	40 °C
Shear rate	42.5 s ⁻¹ , 425 s ⁻¹
Recorded data points/interval	300
Time/interval	600 s

Results

Xylanase activity was determined of the negative control and of samples supplemented with 1 U/g after each digestion stage (Table 3).

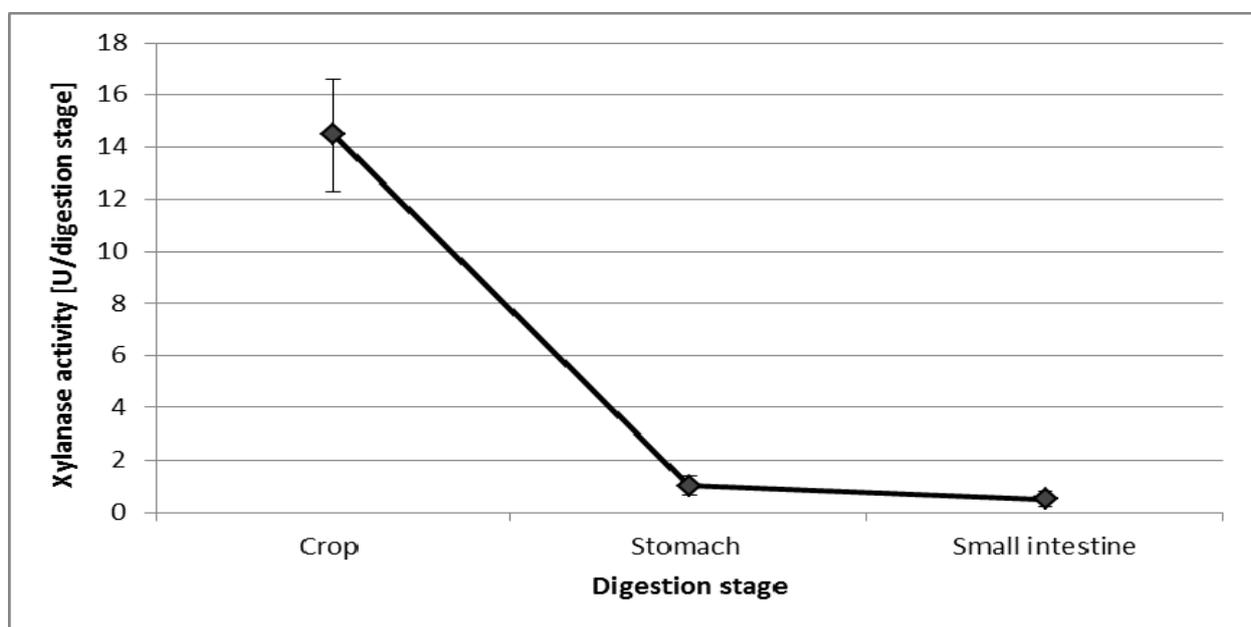
Xylanase activity decreased dramatically during simulation of digestion from 14.46 U to 1.02 U in the stomach and finally to 0.52 U in the small intestine (Figure 1). Data were calculated from the average of six independent determinations less the activity of the negative control.

The determination of viscosity was done in four independent measurements using the negative control and samples supplemented with xylanase. The results (Table 4) show that the addition of xylanase, compared to the negative control, decreased viscosity. The more xylanase was added, the lower viscosity was. In four of five determinations, the standard deviation was lower in samples with xylanase supplementation than in the negative control. The relative standard deviation of samples measured at 425 s⁻¹ was lower than samples measured at 42.5 s⁻¹.

The mean of four determinations showed that samples supplemented with 1 U/g xylanase resulted in a decrease of 37% and 10 U/g in a decrease of 67% related to the viscosity of the negative control (Figure 2).

Table 3: Determined xylanase activity of the negative control and the broiler diet supplemented with xylanase (6-fold determination)

Sample	Digestion stage	Determined xylanase activity [U/digestion stage]
Negative control	Crop	1.02
	Stomach	0.56
	Small intestine	0.95
Broiler diet + 1 U/g	Crop	15.48
	Stomach	1.58
	Small intestine	1.47

**Figure 1:** Trend of xylanase activity during simulation in the *in vitro* digestion model (6-fold determination)

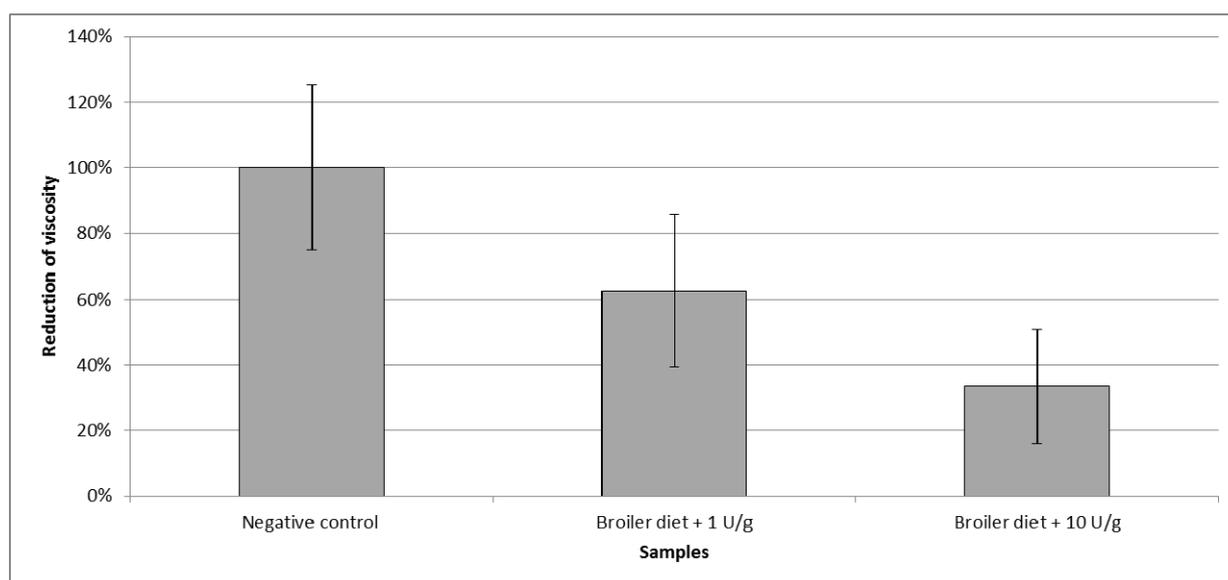
Discussion

In the course of determining the xylanase activity, a certain xylanase activity was detected in the negative control. This activity led to a higher initial activity than 10 U xylanase (1 U/g broiler diet) and can be explained by the presence of endogenous xylanase in feed. There is also the possibility of extracting a corresponding enzyme activity from the feed sample into the assay procedure. Due to this fact, it was important to take the activity of the negative control into account.

The decrease of the pH to 2.5 in the digestion stage stomach was an essential factor of the inactivation of the xylanase activity. Papers of Ao *et al.* (2008) or Wu *et al.* (2005) clearly indicated that xylanase activity is markedly influenced by the pH value. This explained the loss of activity during the digestion stages stomach and small intestine. The low pH value in the stomach as well as the presence of digestive enzymes is one crucial factor for the optimal activity of xylanase as feed additive in general.

Table 4: Effect of xylanase supplementation on viscosity

Determination	Sample	Measuring system	Shear rate [s^{-1}]	Viscosity [mPa s]	SD	rSD
I	Negative control	Concentric cylinder Z 3 DIN	42.5	2,092	891	43%
	Broiler diet + 1 U/g			763	311	41%
	Broiler diet + 10 U/g			386	228	59%
II	Negative control			1,127	357	32%
	Broiler diet + 1 U/g			1,020	552	54%
	Broiler diet + 10 U/g			397	275	69%
III	Negative control		425	193	39	20%
	Broiler diet + 1 U/g			126	33	26%
	Broiler diet + 10 U/g			49	14	29%
IV	Negative control		425	219	44	20%
	Broiler diet + 1 U/g			110	27	25%
	Broiler diet + 10 U/g			68	39	57%
IV	Negative control	425	194	46	24%	
	Broiler diet + 1 U/g		136	47	34%	
	Broiler diet + 10 U/g		111	42	37%	

**Figure 2:** Reduction of viscosity related to the negative control (4-fold determination)

The viscosity reducing effect of xylanase was demonstrated and correlated with the added xylanase concentration. But the results obtained were not that consistent which may be explained by the measuring system and the sample state. The high standard deviations were caused by the inhomogeneity of the mash. Contrary to scientific literature, a different sample preparation and measuring system were used, so it was impossible to perform any comparisons on viscosity data.

Conclusion and outlook

The viscosity reducing effect of the fiber-degrading feed enzyme xylanase could be demonstrated using the established *in vitro* digestion model for chicken.

Further steps would be to extend the determination of the xylanase activity for higher concentrations. This would give more information about the stability of the xylanase against the digestive enzymes pepsin and pancreatin. A focus should be on testing proteolytic stable xylanases to achieve a greater viscosity reduction also with supplementation of 1 U/g xylanase. The viscosity measurement should be further optimized in terms of sample preparation and measuring system. Comparisons to scientific papers would then be possible and samples from *in vivo* trials could be measured.

References

- Ao, T., Cantor, A.H., Pescatore, A.J., Pierce, J.L. 2008. *In vitro* evaluation of feed-grade enzyme activity at pH levels simulating various parts of the avian digestive tract. *Animal Feed Science and Technology* 140, 462-468
- Bedford, M.R., Morgan, A.J. 1996. The use of enzymes in poultry diets. *World's Poultry Science Journal* 52, 61-68
- Lan G.Q., Abudllah, N., Jalaludin, S., Ho, Y.M. 2010. *In vitro* and *in vivo* enzymatic dephosphorylation of phytate in maize-soya bean meal diets for broiler chicken by phytase of *Mitsukella jalaludinii*. *Animal Feed Science and Technology* 158, 155-164
- Wu, Y., Lai, C., Qiao, S., Gong, L., Lu, W., Li, D. 2005. Properties of *Aspergillar* Xylanase and the Effects of Xylanase Supplementation in Wheat-based Diets on Growth Performance and Blood Biochemical Values in Broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 18, 66-74

Corresponding author

Mag. Elisabeth Mader MSc
BIOMIN Holding GmbH
BIOMIN Research Center
Technopark 1; A-3430 Tulln
E-mail: elisabeth.mader@biomin.net

Das Potential einer bakteriellen Xylanase als Präbiotikum

Susanne Kirwan und Elisabeth Holl

Dr. Eckel GmbH, Niederzissen, DE

Hintergrund

Der Haupteinsatz von Xylanasen ist die Freisetzung der von Geflügel und Schweinen schwerverdaulichen Nicht-Stärke-Polysaccharidfraktion (NSP). Dies reduziert anti-nutritive Effekte der NSP Fraktion und ergänzt die tier eigene Enzymaktivität, was den Abbau der Ration verbessert, aber auch zusätzlich zu einer verbesserten Nutzung von Phosphor und Stickstoff führen kann. Vor allem durch die Spaltung von NSP aus Getreide kann eine Energieerhöhung der Ration und eine Verringerung der Zähflüssigkeit des Darmchymus erzielt werden. Ein Zusammenhang zwischen Durchfällen bei Schweinen (*B. hyodysenteriae*) und dem NSP Gehalt in der Ration ist gut belegt (Pluske et al., 1996). Die Studie von Pluske et al. deutet darauf hin, dass *B. hyodysenteriae* speziell bei Futtern mit hohen NSP Gehalten zu einer erhöhten Durchfallhäufigkeit bei Ferkeln führen kann (Abbildung 1).

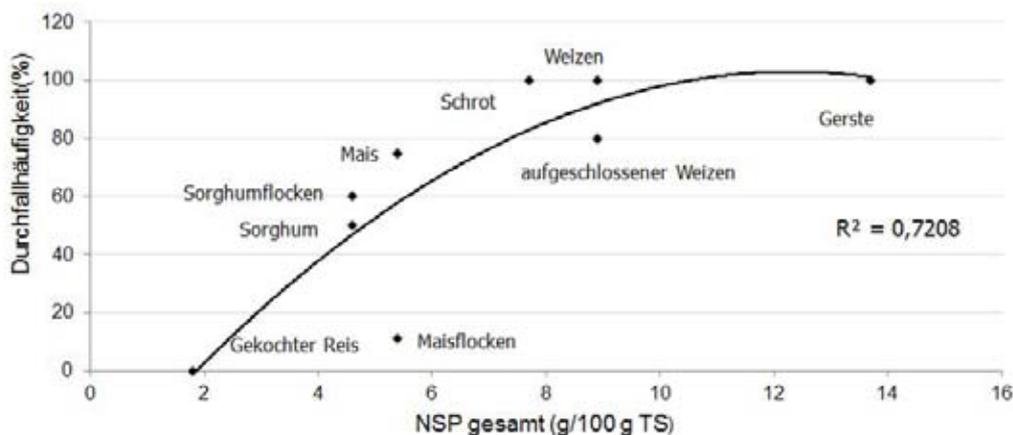


Abbildung 1: Futter mit verschiedenen NSP 10^{10} CFU/Tier *B. hyodysenteriae* nach Pluske et al. 1996

Hier kann der Einsatz einer Xylanase Durchfälle bei Absetzferkeln deutlich verringern. Auf dem europäischen Markt werden zwei Gruppen von Xylanasen eingesetzt: die Xylanasen pilzlichen Ursprungs und die Xylanasen bakteriellen Ursprungs.

Plitzner et al. (2006) zeigten, dass eine Zugabe der 1,4- β -Endoxylanase Belfeed zu einem typischen Schweinefutter die zootechnischen Parameter in der Schweinemast deutlich zu verbessern vermag. Ebenso konnte durch die Zugabe von Belfeed zur einer 47-58% Weizenration die Futterverwertung signifikant verbessert werden.

Neueste Ergebnisse deuten darauf hin, dass die beobachteten positiven Effekte der Endoxylanasen auch präbiotischer Natur sein können. Präbiotika sind nach der aktuellen Definition von Roberfroid (2007): „*Selektiv fermentierbare Lebensmittelbestandteile welche gezielt das Wachstum und/oder die Aktivität einer oder mehrerer Bakterienarten im Dickdarm anregen und somit dem Wirt Vorteile und Gesundheit geben*“.

Die funktionellen Eigenschaften von NSP-Enzymen

Die präbiotische Wirkung von Endoxylanasen beruht auf den NSP-Fragmenten, die es erzeugt.

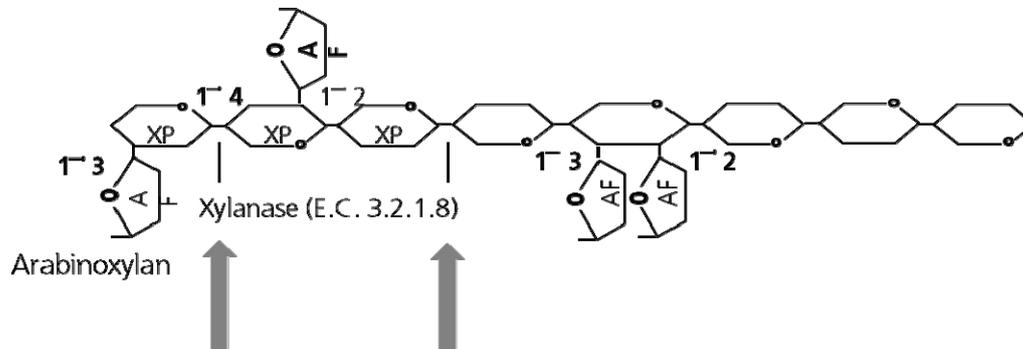


Abbildung 2: Ansatzpunkte der 1,4-Endoxylanase

Im Gegensatz zu anderen Xylanasen, spalten 1,4-Endoxylanasen die NSP-Fraktion im Futter in (Arabi-no) Xylo-Oligosaccharide (AXOS) mit einem Polymerisationsgrad (DP) von ≥ 4 (Janssens und Gaet-hofs, 2007).

Ein DP unter 4 wird von anderen Xylanasen erreicht und birgt das Risiko von Xylosebildung (Holzzu-cker), welcher mit osmotischen Durchfällen assoziiert sein kann.

AXOS mit einem DP über 4, wie sie durch spezifische Endoxylanasen entstehen, können weder von Geflügel noch von Schweinen enzymatisch verdaut werden. Sie sind jedoch besonders für Lactobazil-len und Bifidobakterien im Dickdarm ein Substrat. Laktobazillen und Bifidobakterien sind bekannte Antagonisten zu Pathogenen wie Salmonellen, Campylobacter, pathogenen E. Coli und B. hyodysent-eriae (z. B. Bernardeau et al., 2008, in print). Dadurch haben die entstandenen AXOS im Sinne der Definition von Robertfroid präbiotische Eigenschaften.

Ein direkter Vergleich mit 500 männlichen Cobb Broilern (Courtin et al., 2008) zwischen einem Broiler-futter mit 0,5% zugesetzten AXOS, einem Broilerfutter mit Belfeed und einem Standard zeigten, dass bei der Futterverwertung signifikante ($P < 0,05$) Verbesserungen im Vergleich zum Standard erreicht wurden. Zwischen der Zugabe von AXOS und dem Einsatz von Belfeed ließen sich keine signifikanten Unterschiede darstellen (Abbildung 3).

Dieses Ergebnis zeigt das Belfeed vergleichbarer Ergebnisse zu einem Präbiotikum (AXOS) erzielt und hochsignifikant bessere Futterverwertungen erzielt als ein Standard. Dieser Versuch zeigt, dass die AXOS welche durch Belfeed aus NSP gebildet werden vergleichbar in ihrer präbiotischen Wirkung sein können als reine AXOS als Futterzusatz.

In einer Studie von 2008 (Vandeplas et al.), mit einer induzierten Salmonellose am Tag 3 (10^5 CFU/Tier), zeigte die Belfeedgruppe über den gesamten Versuchszeitraum einen geringeren Ge-halt an Salmonellen im Kot als die Kontrollgruppe ohne Enzym oder Probiotikum (Abbildung 4). Eine signifikante Reduktion der Salmonellen im Kot (2 log CFU/g) zeigte die Belfeedgruppe am Schlachttag (Tag 44).

Die beobachtete Reduktion in Salmonellen könnte auf einer Konkurrenz mit positiver Flora induziert sein welche die AXOS selektiv fermentiert. Damit hätte das Enzym über die typischen Enzymwirkun-gen hinaus einen Effekt als Präbiotikum durch die entstandenen AXOS.

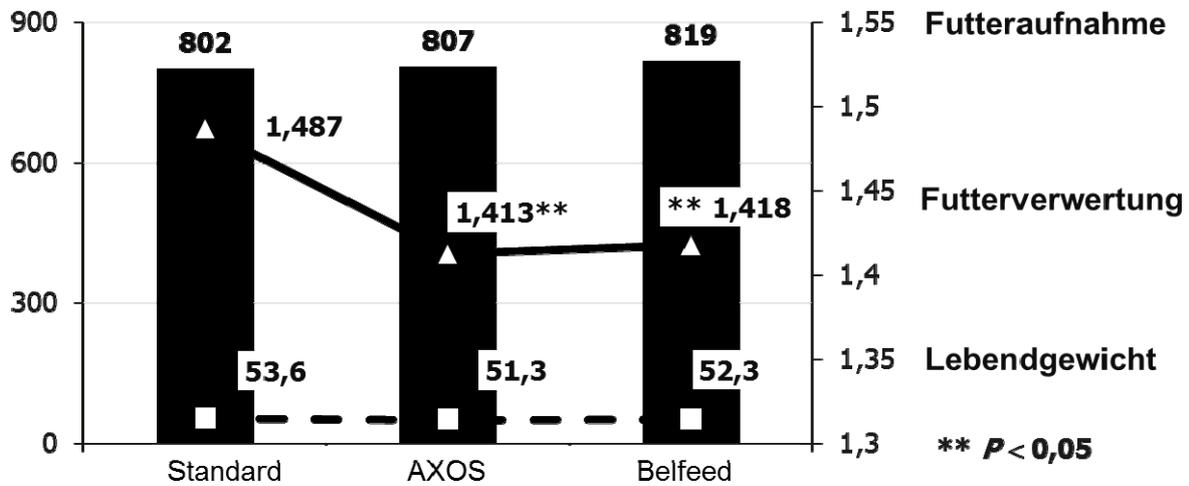


Abbildung 3: Effekt von AXOS und der Endoxylanase Belfeed auf die Leistung von Broilern (nach Courtin et al., 2008)

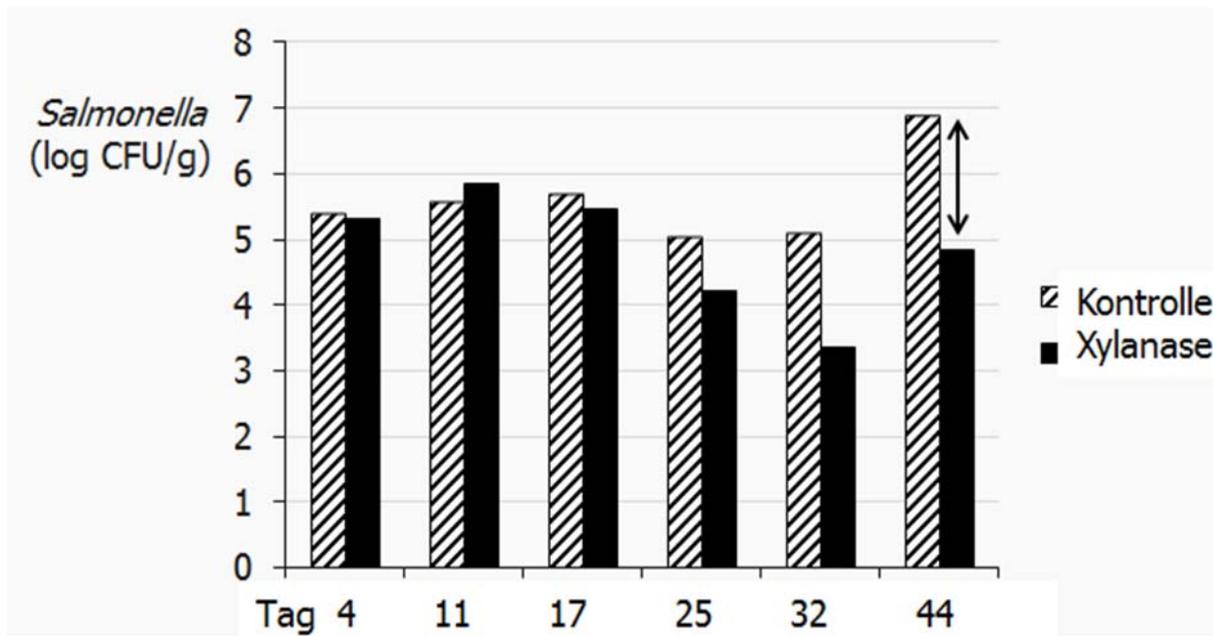


Abbildung 4: Effekt der Endoxylanase Belfeed auf Salmonellenbesiedlung im Kot

Zusammenfassung

Zusammenfassend ist gut beschrieben, dass die Endoxylanase Belfeed alle positiven Effekte eines NSP-Enzymes vorweist. Darüber hinaus bildet das Enzym klar definierte AXOS mit einem DP ≥ 4 aus der NSP Fraktion. Die Verringerung des NSP-Gehaltes kann sich positiv auf die Eubiose im Darm auswirken. Die entstandenen größeren AXOS können als Substrat für Lactobazillus und Bifidobakterien, welche Antagonisten zu bekannten Pathogenen, wie z.B. B. hyodysenteriae sind, präbiotische Wirkung

haben, das heißt den Wirt positiv beeinflussen. Dies lässt sich an der Erhöhung erwünschter Bakterien im Kot und in der Konsequenz der Reduktion von unerwünschten Organismen, wie zum Beispiel Salmonellen, im Kot erkennen. Es ist möglich, dass darüber hinaus die AXOS weitere positive Effekte, die von anderen Präbiotika bekannt sind, wie verbesserte Mineralstoffaufnahme, haben. Da es sich bei AXOS um eine neue Stoffgruppe bei echten Präbiotika handelt wären weitere Studien in diese Richtung nötig und relevant.

Literatur

- Bernardeau, M., Gueguen, M., Smith, D.G.E., Corona-Barrera, E., Vernoux, J.P., *In vitro* Antagonistic activities of *Lactobacillus* spp. against *Brachyspira hyodysenteriae* and *B. pilosicoli*, *Veterinary Microbiology* (2008)
- Courtin, C.M., Broekaert, W.F., Swennen, K., Lescroart, O., Onagbesan, O., Buyse, J., Decuypere, E., Van de Wiele, T., Marzorati, M., Verstraete, W., Huyghebaert, W., and Delcour, J.A. (2008); Dietary Inclusion of Wheat Bran Arabinoxyloligosaccharides Induces Beneficial Nutritional Effects in Chickens. *Cereal Chemistry Journal* 2008, (85:5), pp. 607-613.
- Janssens, D. and Gaethofs, B. (2007) Endo-xylanase, a possible way of supplying prebiotic oligosaccharides? Proceedings of the 19th Australian Poultry Science Symposium, Sydney, New South Wales, Australia 12-14 February 2007 pp. 165-168.
- Plitzner, C., Wagner, V., Schedle, K. und Windisch, W. (2006) Nutritive Wirksamkeit von Xylanase bei Weizen-betonten Rationen in der Schweinemast. 10. BOKU Symposium für Tierernährung, Wien, Österreich.
- Pluske, J.R., Siba, P.M., Pethick, D.W., Durmic, Z., Mullan, B.P. and Hampson, D.J. (1996) The incidence of swine dysentery in pigs can be reduced by feeding diets that limit the amount of fermentable substrate entering the large intestine. *The Journal of nutrition* 126 (11): pp. 2920-2933.
- Roberfroid, M.B. (2007). "Prebiotics: The Concept Revisited". *Journal of Nutrition*, 137 (3 Suppl 2), pp. 830S–75.
- Vandeplas, S., Dubois Dauphin, R., Thiry, C., Beckers, Y., Welling, G.W., Thonart, P., and Théwis, A. (2009) Efficiency of a *Lactobacillus plantarum*-xylanase combination on growth performances, microflora populations, and nutrient digestibilities of broilers infected with *Salmonella Typhimurium*. *Journal of Poultry Science*, August 2009 (88:8), pp. 1643-1654.

Autorenanschrift

Dr. Susanne Kirwan
Dr. Eckel GmbH
Im Stiefefeld 10; D-56651 Niederzissen
E-Mail: s.kirwan@dr-eckel.de

Wirksamkeit einer hitzestabilen 6-Phytase auf die P Verdaulichkeit und Knochenmineralisierung von Absetzferkeln

Imke Kühn¹, Petra Philipps¹ und Kirsi Partanen²

¹ AB Vista, DE

² MTT Agrifood Research Finland, FI

Einleitung

In Futtermitteln pflanzlichen Ursprunges liegt Phosphor größtenteils in Phytat gebunden vor und ist damit im Verdauungstrakt von Schweinen nicht vollständig verfügbar. Ferkelrationen enthalten ungefähr 2 bis 3 g Phytat-P je kg TM. Phytat bindet durch Chelatkomplexe neben P auch andere Nährstoffe und reduziert damit deren Verfügbarkeit für Schweine (Selle und Ravindran, 2008). Zur Verbesserung der Nährstoffverfügbarkeit in der Ferkelfütterung eingesetzte Phytasen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Wirksamkeit durch verschiedenen Faktoren wie das jeweilige pH Optimum und die proteolytische Stabilität (Greiner und Konietzny, 2011) und der empfohlenen Einsatzrate (Jones et al., 2010). Daneben beeinflussen die Futterzusammensetzung insbesondere die Phytat- Ca-, und die nativen Phytasegehalte die Phytasewirksamkeit (Selle und Ravindran, 2008). Phytasen werden standardmäßig mit 500 FTU/kg in Ferkelrationen eingesetzt, höhere Phytasezulagen werden aber zunehmend im Hinblick auf ihre Wirksamkeit zur Verbesserung der Leistungsparameter geprüft (Jones et al., 2010).

Das Ziel dieser Untersuchung war es, den Effekt einer neuen, hitzestabilen 6-Phytase in 3 verschiedenen Dosierungen auf die Leistung, fekale P und Ca Verdaulichkeit und die Knochenmineralisierung bei Ferkeln zu prüfen, die eine Standardration (PC) oder eine im P und Ca Gehalt reduzierte Ration (NC) erhielten.

Material und Methoden

In dem Versuch wurden 192 Absetzferkel über 6 Behandlungen mit 16 Wiederholungen je 2 Ferkeln verteilt (Yorkshire × Landrasse und Duroc, abgesetzt im Alter von 28 Tagen). Die Ferkel erhielten über 25 Tage ein Ferkelabsetzfutter (NE 9,5 MJ/kg; CP 180 g/kg; Lys 11,4 g/kg) gefolgt von einem Ferkelaufzuchtfutter über die Dauer von 21 Tagen (NE 9,3 MJ/kg; CP 175 g/kg und Lys 11,2 g/kg). Die Futter bestanden hauptsächlich aus Weizen (34,5 und 36%), Gerste (30 und 35%), Sojaextraktionschrot (11 und 12%), Hafer (5 und 7%), Molkeprotein (2 und 4%) und einem Sojaproteinkonzentrat (5 und 0%). Außer im Hinblick auf ihre P und Ca Gehalte war die Rationszusammensetzung basierend auf den regionalen Empfehlung für Absetzferkel konzipiert (MTT, 2011). Die Ration, die der Empfehlung entsprach (Positive Kontrolle; PC) enthielt 8,0 g/kg Ca and 2,9 g/kg verdaulichen P, wohingegen die reduzierte Ration (Negative Kontrolle; NC) lediglich 6,4 g/kg Ca und 1,9 g/kg verdaulichen P enthielt. Die Phytase (Quantum[®] Blue, 6-Phytase produziert mit *Trichoderma reesei*) wurde beiden Rationstypen mit 0, 500 oder 1000 Einheiten (FTU)/kg Futter zugelegt. Das pelletierte Futter sowie Wasser war den Ferkeln ohne Einschränkung zugänglich (*ad libitum*). Die Futteraufnahme und die Wachstumsparameter wurden separat für beide Fütterungsphasen erhoben. Die fekale P und Ca Verdaulichkeit wurde durch Stichprobensammlung des Kotes über einen Zeitraum von 5 Tagen innerhalb der letzten Fütterungswoche ermittelt. Hierzu wurde dem Ferkelaufzuchtfutter 4 g TiO₂/kg als unverdaulicher Marker zugesetzt.

Die getrockneten Futter- und Kotproben (60°C, über einem 1-mm Sieb vermahlen) wurden auf ihren Gehalt an Ca und P (Luh Huang und Schulte, 1985) sowie Ti (in Anlehnung an van Bussel et al., 2010) analysiert.

Die Phytasegehalt der Futter wurde mit der validierten Quantummethode analysiert (B-074, ROAL Oy, Finnland).

Am Versuchsende wurden je 12 Ferkel der beiden Kontrollgruppen sowie der Behandlungen, die die NC Ration mit 500 und 1000 FTU/kg Futter erhielten zur Entnahme von Knochen (Metakarpalknochen III und IV, links) geschlachtet. Die Knochen wurden bei -18°C bis zur Analyse gelagert, nach dem Auftauen zerkleinert und nach 20h Trocknung bei 20°C die TM bestimmt. Anschließend wurden die Knochen 16h bei 550°C verascht und die Ca und P Gehalte mittels IPC emissionspektrometrisch in Anlehnung an Luh Huang und Schulte (1985) bestimmt.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SAS (Version 9.2, gemischtes Modell mit randomisiertem Blockdesign, fixe Effekte: P und Phytasegehalt sowie deren Interaktion). Signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Behandlungen wurden mittels des Tukey Tests geprüft ($P < 0.05$).

Ergebnisse

Die Analyseergebnisse der P, Ca und der Phytasegehalte bestätigten weitestgehend die angestrebten Unterschiede der Rationen. Die NC Futter enthielten 0,55 bis 0,58% P, 0,66 bis 0,75% Ca und 404 bis 420 und 793 bis 1040 FTU/kg Phytase. Die PC Rationen enthielten 0,71 bis 0,75% P, 0,79 bis 1,06% Ca, 400 bis 553 und 796 bis 1150 FTU/kg Phytase. Die Gehalte an Phytat gebundenem P betragen 2,7 bis 2,9 g/kg TM.

Über den gesamten Versuchszeitraum wurden keine Unterschiede in der Lebendmasse der Ferkel im Hinblick auf die verschiedenen Rationen ermittelt (Tabelle 1, $P > 0,05$). Während in der Phase I Phytase die tägliche Zunahme und die Futtermittelverwertung steigerte (linear, $P < 0,05$) waren diese Parameter in der Fütterungsphase II sowie über den gesamten Versuch zwischen den Behandlungen nicht unterschiedlich ($P > 0,10$).

Tabelle 1: Leistung von Ferkeln, die Futter mit reduzierten (NC) oder adäquaten (PC) P und Ca Gehalten unter Zulage von 0, 500, oder 1000 FTU einer hitzestabilen Phytase /kg Futter erhielten

	NC			PC			SEM	P
	0 FTU	500 FTU	1000 FTU	0 FTU	500 FTU	1000 FTU		
Anfangsgewicht, kg	9,8	9,8	10,0	10,0	9,9	10,0	0,4	0,98
Gewicht Tag 46, kg	30,7	31,3	33,2	31,6	30,9	32,0	1,1	0,62
Tägliche Zunahme, g								
Tag 0 - 25 ¹	260	271	294	256	261	291	17	0,46
Tag 0 - 46	453	467	503	473	455	485	19	0,44
G:F, kg/kg TM								
Tag 0 - 25	0,638 ^a	0,701 ^b	0,685 ^{ab}	0,644 ^a	0,726 ^b	0,708 ^b	0,022	0,05
Tag 0 - 46	0,631	0,670	0,662	0,647	0,684	0,666	0,014	0,10

^{ab} Mittelwerte innerhalb einer Reihe mit unterschiedlichen Hochbuchstaben sind signifikant verschieden ($P < 0,05$).

G:F: Futtermittelverwertung ermittelt als Zuwachs : Futteraufnahme

¹ Linearer Effekt der Phytasezulage ($P < 0,05$)

Die Phytasezugabe verminderte die fekale P Ausscheidung ($P < 0,05$). Bei Ferkeln, die die NC Rationen erhielten war dieser Effekt auf die fekale P Ausscheidung linear (Abbildung 1, $P < 0,05$) wohinge-

gen bei Zulage zu den PC Rationen ein quadratische Phytaseeffekt ermittelt wurde ($P < 0,05$). Die resultierenden verbesserten Ca und P Verdaulichkeiten sind in Abbildung 1 dargestellt.

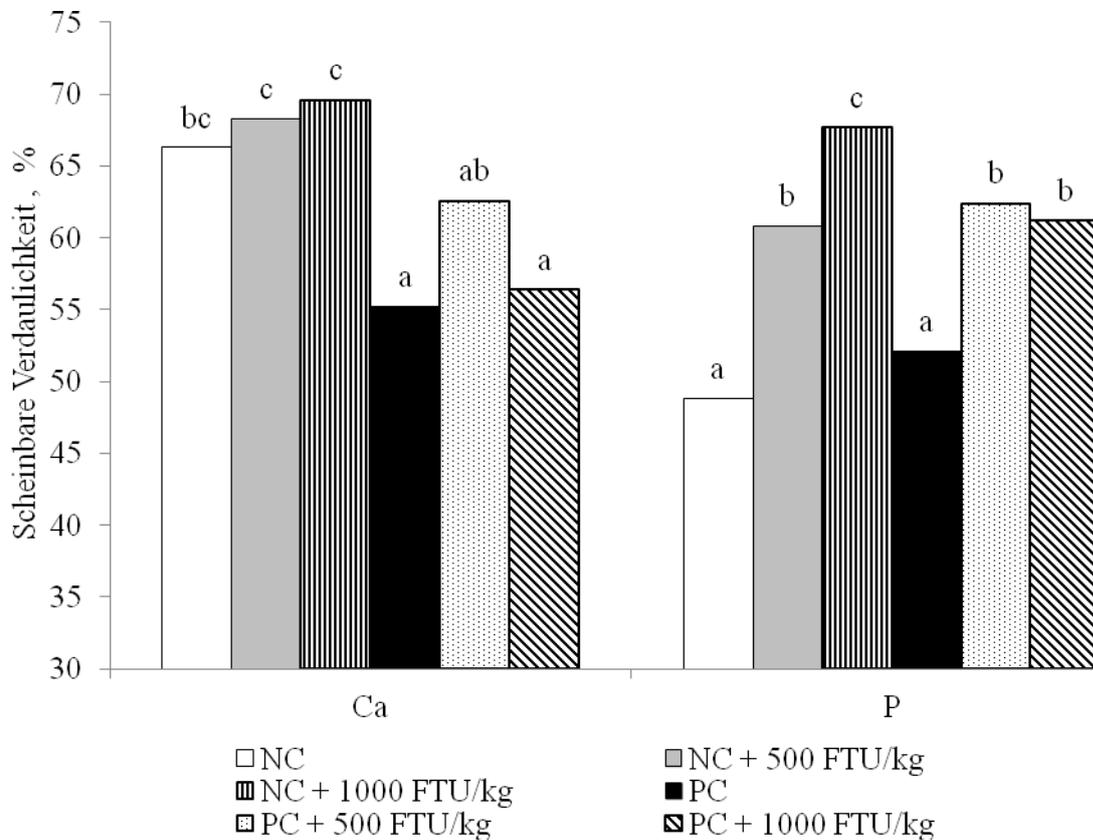


Abbildung 1: Scheinbare fekale Ca und P Verdaulichkeit von Ferkelfuttern mit reduzierten (NC) oder adequate (PC) Ca und P Gehalten bei Zulage von 0, 500 oder 1000 Phytaseeinheiten (FTU/kg) einer hitzestabilen 6-Phytase

^{a,b,c}Mittelwerte innerhalb eines Parameters mit unterschiedlichen Hochbuchstaben sind signifikant verschieden; ($P < 0,05$), $n=8$

Die Phytasezulage steigerte den Anteil der verdauten P und Ca Mengen der Rationen ($P < 0,05$). In den NC Rationen wurde der Gehalt an verdautem P mit 2,8 g/kg TM bestimmt und stieg bis auf 3,5 g/kg TM bei Zulage von 500 FTU Phytase/kg, ($P < 0,05$) und auf 3,9 g/kg TM bei Zulage von 1000 FTU Phytase/kg ($P < 0,05$). In der PC Ration wurde der Gehalt an verdaulichem P mit 3,9 g/kg TM ermittelt und unterschied sich damit nicht von dem Gehalt verdaulichem P in der mit 1000 FTU/kg zugelegten NC Ration. Die Phytasezulage zu den PC Rationen steigerte den Gehalt an verdaulichem P auf 4,8 und 4,7 g/kg TM ($P < 0,05$) ohne Unterschied zwischen den beiden Zulagestufen ($P > 0,05$).

Die Reduktion des Gesamtphosphorgehaltes der Ration um 1,5 g und des Calciumgehaltes um 1,6 g (NC zu PC) reduzierte das Knochengewicht der Ferkel nur minimal (1 g, $P > 0,05$), den Asche-, Ca- und P- Gehalt jedoch signifikant um 28 mg/g, 10 mg/g respektive 5 mg/g ($P < 0,05$). Der reduzierten Ration zugelegte Phytase führte zu einem besseren Knochenwachstum (1,5 g, $P < 0,05$ bei 1000 FTU/kg im Vergleich zu der unsupplementierten Kontrolle). Die Knochenmineralisierung wurde ebenfalls durch die Phytasezulage verbessert, sodass Knochen der Ferkel die die NC Ration mit 500 FTU/kg erhielten insgesamt 227 mg mehr Asche, 82 mg mehr Ca und 43 mg mehr P aufwiesen ($P < 0,05$). Bei Ferkeln,

die die NC Ration mit 1000 FTU/kg erhielten wurde 638 mg mehr Asche, 237 mg mehr Ca und 114 mg mehr P im Knochen gebunden ($P < 0,05$) als bei den Tieren die die reduzierte Ration ohne Phytase erhielten und damit Werte erreicht, die denen der Ferkel entsprach, die die ausgewogene Ration erhielten ($P > 0,05$).

Tabelle 2: Knochenparameter von Ferkeln, die Futter mit 0, 500, oder 1000 FTU einer hitzestabilen 6-Phytase /kg Futter erhielten, n=12

Metacarpal III+IV	NC*			PC*		SEM	P
	0 FTU	500 FTU	1000 FTU	0 FTU			
Knochengewicht, g	9,8 ^a	10,1 ^{ab}	11,3 ^b	10,8 ^{ab}	0,4	0,04	
Aschegehalt, mg/g TM	328 ^a	350 ^b	366 ^b	356 ^b	6	<0,01	
Ca Gehalt, mg/g TM	121 ^a	129 ^b	135 ^c	131 ^{bc}	2	<0,01	
P Gehalt, mg/g TM	56 ^a	60 ^b	63 ^c	61 ^{bc}	1	<0,01	
Asche, mg/Knochen	1914 ^a	2141 ^{ab}	2552 ^c	2416 ^{bc}	106	<0,01	
Ca, mg/Knochen	707 ^a	789 ^b	944 ^b	889 ^b	39	<0,01	
P, mg/Knochen	324 ^a	367 ^b	438 ^c	414 ^c	18	<0,01	

*Futter mit reduziertem (NC) oder ausgewogenem (PC) P und Ca Gehalt

^{ab} Mittelwerte innerhalb einer Reihe mit unterschiedlichen Hochbuchstaben sind signifikant verschieden ($P < 0,05$)

Diskussion

Es wurden keine klaren Interaktionen zwischen P und Phytase ermittelt. Dies zeigt zumindest für die hier eingesetzten Gehalte dass der Phytaseeffekt unabhängig vom P und Ca Gehalt der Ration war und unterstützt die Angaben von Selle und Ravindran (2008), dass voraussichtlich die Phytatbindung von Mineralstoffen, Proteinen und Stärke maßgeblich deren Verdaulichkeit limitiert. Weiterführende Untersuchungen zum Phytatabbau könnten deutlicher als die P Verdaulichkeit darüber Aufschluss geben, inwieweit einer Komplexbindung von Nährstoffen durch Phytase gezielt entgegengewirkt werden kann.

Da die höhere Phytasezugabe keinen signifikant zusätzlichen Effekt im Vergleich zu der bisher üblichen Phytasedosierung von 500 FTU/kg in der Leistung jedoch eine verbesserte Knochenmineralisierung bewirkte, ist davon auszugehen, dass P das Wachstum der Tiere auch bei höherer Phytasezugabe limitierte. Dafür spricht, dass auch bei Phytasezugabe zur ausgewogenen Ration höhere scheinbare P Verdaulichkeiten als bei den entsprechenden PC Kontrolltieren erzielt wurden. Die Knochenparameter dieser Tiere wurden leider nicht erhoben, um die Zahl der zu schlachtenden Ferkel gering zu halten. Um ein optimales Wachstum direkt nach dem Absetzen nicht durch P Reduktion zu limitieren, gleichzeitig aber einer Nährstoffbindung durch Phytat entgegenzuwirken, wäre der Phytasezusatz ohne P Reduktion direkt nach dem Absetzen näher zu prüfen.

Insgesamt wurde durch beide Zulagestufen der hitzestabilen 6-Phytase ein positiver Effekt insbesondere auf die P und Ca Verdaulichkeit und Knochenmineralisierung erzielt. Im Hinblick auf die Leistung verbesserte Phytase die Futtermittelverwertung unabhängig von der Zulagestufe sowohl in der reduzierten wie auch ausgeglichenen Ration direkt nach dem Absetzen. Ein zusätzlicher Effekt durch Steigerung der Phytasezugabe wurde in der NC Ration in Parametern der Knochenmineralisierung und in der scheinbaren fekalen P Verdaulichkeit erreicht.

Literatur

Greiner, R., and U. Konietzny. 2011. Phytases: Biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. Pages 96-128 in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. M. R. Bedford, and G. G. Partridge, eds. CAB Intl., Oxfordshire, UK.

Jones, C. K., M. D. Tokach, S. S. Dritz, B. W. Ratliff, N. L. Horn, R. D. Goodband, J. M. DeRouchey, R. C. Sulabo, and J. L. Nelssen. 2010. Efficacy of different commercial phytase enzymes and development of an available phosphorus release curve for *Escherichia coli*-derived phytases in nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 88:3631-3644.

Luh Huang, C. Y., and E. E. Schulte. 1985. Digestion of plant tissue for analysis by ICP emission spectrometry. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 16:943-958.

MTT. 2011. Feed tables and nutrient requirements. MTT Agrifood Research Finland. Accessed Feb. 1, 2011. <http://www.mtt.fi/feedtables>.

Selle, P. H., and V. Ravindran. 2008. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livest. Sci.* 113:99-122.

van Bussel, W., F. Kerkhof, T. van Kessel, H. Lamers, D. Nous, H. Verdonk, and B. Verhoeven. 2010. Accurate determination of titanium as titanium dioxide for limited sample size digestibility studies of feed and food matrices by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with real-time simultaneous internal standardization. *At. Spectrosc.* 31:81-88.

Autorenanschrift

Dr. Imke Kühn
AB Enzymes GmbH / AB Vista,
Feldbergstr. 78, D-64293 Darmstadt
E-Mail: imke.kuehn@abenzymes.com

Effect of a combination of organic an acid blend, cinnamaldehyde and a permeabilizing substance on the cecal microbiome and growth performance in broilers

Nataliya Roth¹, Renata Urbaityte¹, Xiao Yan², Qu Lei² and Sun Weidong²

¹ Biomin Holding GmbH, Industriestraße 21, 3130 Herzogenburg, AT

² Clinical Center of Animal Diseases, Diagnosis and Therapy, Nanjing Agricultural University, Nanjing, CN

Introduction

Antibiotic growth promoters (AGP) have been used in animal production worldwide since 1946, when their positive effects were observed for the first time (Moore *et al.*, 1946). AGP are antibiotics added to animal feed at subtherapeutic levels to increase growth, improve feed efficiency, and decrease the incidence of diseases (Khachatourians *et al.*, 1998). The use of antibiotics over time in animal health and growth promotion has resulted in the bacterial resistance to these antibiotics (Van Den Bogaard *et al.*, 1999; Smith *et al.*, 2010). The transfer of antibiotic resistant genes from animals to humans has now become evident (Greko, 2001). A lot of attention is being focused on the problem of bacterial resistance, which has resulted in the banning and/or regulation of the use of AGP by a number of countries (Council regulation 98/2821/CEE, 1998; WHO, 2001). The development of alternative products and improved management is therefore necessary to eliminate the use of AGP while maintaining productivity.

Organic acids (OA) as alternatives to AGP have increasingly and successfully been supplemented in poultry feed. It is generally known that acidifiers improve poultry performance. Acids reduce the microbial load, aid the buffering capacity and reduce the pH in the feed. The pH reducing effect of acidifiers in the foregut supports protein digestion (Eidelsburger and Kirchgessner, 1994; Overland *et al.*, 2000). Mroz (2000) noted that the reduction in gastric pH activates pepsinogen and other zymogens and brings the pH of the stomach closer to the optimum for pepsin activity. Organic acids improve protein and energy digestibility by reducing microbial competition with the host for nutrients and endogenous nitrogen losses, lowering the incidence of subclinical infections and secretion of immune mediators, and reducing the production of ammonia and other growth-depressing microbial metabolites (Dibner and Buttin, 2002). However, the efficacy of organic acids can be improved by combining them with phytochemicals and permeabilizing substances (PS). Combining OA with plant derivatives may be beneficial due to the effect on different parts of the gastro-intestinal tract. OA would exert their activity in the feed and upper gastro-intestinal tract and plant derivatives to a greater extent in the distal part of the intestinal tract (Langhout, 2000). The phytochemical cinnamaldehyde (CA) targets the FtsZ protein, which plays an important role in the cell division of pathogenic bacteria (Domadia *et al.*, 2007). Under normal circumstances, FtsZ polymerizes into filaments, which assemble at the place within the cell where cell division takes place. There, they form a polymeric structure known as the "Z-ring" on the inner membrane in the middle of the cell, which is responsible for the cell's division. CA inhibits not only the formation of FtsZ into filaments, but also the essential processes involved in the Z-ring formation, its function and thus the cell division. This results in a reduction in the bacterial load within the gastro-intestinal tract (GIT).

Despite the fact that natural replacements for AGPs are known, fighting Gram-negative bacteria is a challenge. The outer membrane of Gram-negative bacteria acts as a barrier that prevents antimicrobial compounds from entering the cell and destroying vital functions (Cánovas *et al.*, 2005). This outer

membrane can be destabilized by a permeabilizing substance (PS), which makes the bacterial cell more susceptible to antimicrobial compounds (Alakomi, 2001).

An experiment was conducted to study the effects of dietary supplementation with a natural growth promoter (NGP) consisting of a blend of formic, acetic and propionic acids, CA and PS (Biotronic® Top3, BIOMIN, Austria) in a corn-soybean meal-based diet on growth performance and cecal microbiome.

Material and methods

The trial was conducted in a commercial broiler farm in Jiangsu Province, China. Four hundred day-old healthy AA broiler chicks were fed the commercial diets with the composition as shown in Table 1. Chicks had *ad libitum* access to feed and water. All birds were randomly assigned to two treatments with four replicates in each treatment and 50 broilers (half male and half female) in each replicate. A negative control group received no APG or NGP, whereas a trial group received 1 kg NGP based on formic, propionic and acetic acids, CA and PS, per ton of feed. The feeding trial lasted for 42 days. Body weight (BW) of the individual animals and feed intake were measured and recorded on days 1, 21 and 42. Morbidity rates and mortality rates were recorded as they occurred. The feed conversion rate (FCR) was also calculated.

At 21 and 42 days of age, eight animals from each group were randomly selected for sampling and slaughtered. The intestinal contents were collected from the cecum into plastic 50-ml Falcon tubes. The collected contents were kept in ice until inoculation and incubation. The samples were processed within 10 to 60 min after collection. They were weighed and serially diluted in 0.9% saline, and 0.1 ml of each sample was plated on selective media. The counts of *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* and *Lactobacillus spp.* in the cecal content were analyzed. Coliforms (*E. coli*) were grown on MacConkey agar (MERCK 5465) aerobically at 37°C for 24 hours. *Salmonella spp.* was grown on MacConkey agar (MERCK 5465) aerobically at 37°C for 24 hours. *Lactobacillus spp.* was grown on Rogosa agar (MERCK 5413) anaerobically at 37°C for 48 h with Merck Anaerocult A. *Clostridium perfringens* was grown on 5% blood agar (MERCK 10886) anaerobically at 37°C for 48 hours with MERCK Anaerocult A.

Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Duncan's multiple range test. All analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software. A value of $P < 0.05$ is considered significant.

Results

Growth performance was improved due to the supplementation of diets with NGP (Table 2). BW at day 21 and at day 42 was higher ($P < 0.05$) in the NGP group in comparison with the control group. Also the average daily weight gain (ADWG), and average daily feed intake (ADFI) of the NGP group were higher ($P < 0.05$), than the control group at day 42. ADWG was higher ($P < 0.05$) than the control group in the trial period from day 1 to day 21 and from day 22 to day 42. ADFI was higher ($P < 0.05$) in the trial period from day 22 to day 42. FCR was improved in the NGP group in comparison with the control group at day 42. Calculated EPEF was higher ($P < 0.05$) in the NGP group than in the control group.

Effects of NGP on the level of *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Lactobacillus spp.* and *Clostridium perfringens* in broilers are presented in Table 3. The counts of *E. coli*, *Salmonella spp.*, and *Clostridium perfringens* in the NGP group were lower ($P < 0.05$) than those in the control group on day 21 and day 42. The counts of *Lactobacillus spp.* in the NGP group on day 21 and day 42 were higher ($P < 0.05$) than those in the control group ($P < 0.01$) on day 21 and day 42.

Table 1: Composition of the poultry diet, %

Ingredient (%)	Starter (0-21 days)	Grower (22-42 days)
Corn	62.10	70.90
Soybean meal	27.47	18.00
Corn gluten meal	3.00	5.00
Fish meal	2.80	0.00
Soybean oil	1.00	2.40
L-Lysine	0.10	0.27
DL-Methionine	0.10	0.09
L-Threonine	0.00	0.04
Limestone	1.02	0.93
Monocalcium phosphate	1.90	1.72
Choline chloride	0.07	0.09
Vitamin premix ¹⁾	0.10	0.08
Sodium chloride	0.22	0.38
Trace mineral premix ²⁾	0.12	0.10
Total	100.00	100.00
Formulated nutrients per kg diet		
Digestible energy (MJ/kg)	12.22	13.19
Crude protein,%	21.00	17.00
Ether extraction,%	3.70	5.00
Calcium,%	0.85	0.80
Available phosphorus,%	0.48	0.40
Lysine,%	1.05	0.85
Methionine,%	0.45	0.37
Tryptophan,%	0.20	0.14
Threonine,%	0.67	0.56
Methionine + Cysteine,%	0.77	0.65

¹⁾ Vitamin premix provided per kilogram of diet: retinyl acetate, 12,500 IU; cholecalciferol, 2,500 IU; DL- α -tocopheryl acetate, 18.75 mg; menadione sodium bisulfate, 2.65 mg; sulfamide, 2 mg; riboflavin, 6 mg; vitamin B₁₂, 0.025 mg; biotin, 0.0325 mg; folic acid, 1.35 mg; D-Calcium-pantothenate, 12 mg; nicotinic acid, 50 mg.

²⁾ Trace mineral premix provided per kilogram of diet: Cu, 12 mg from copper sulfate; Zn, 60 mg from zinc oxide; Fe, 72 mg from iron sulfate; Mn, 72 mg from manganese oxide; Se, 0.24 mg from sodium selenite; I, 1.2 mg from ethylene diamine dihydroiodine.

Discussion

OA are well known to improve growth performance and modulate the intestinal microbiome of poultry (Ricke, 2003; Garrido *et al.*, 2004; Owens *et al.*, 2008; Pirgozliev *et al.*, 2008). In their undissociated form, they can penetrate the bacterial cell and stop bacterial growth (Stonerock, 2007). The use of an organic acid mixture decreases the total bacterial count and Gram-negative bacterial count significantly in the broiler chickens (Gunal *et al.*, 2006). Using OA instead of single acids may be more beneficial as a result of a broader spectrum of activity (Namkung *et al.*, 2003). Combining OA with other naturally derived substances is beneficial in comparison to the use of these substances alone. Combining OA with plant derivatives may be beneficial due to the effect on different parts of the GIT. OA exert their activity in the feed, upper GIT and plant derivatives to a greater extent in the distal part of the intestinal tract (Langhout, 2000).

Table 2: Performance characteristics of broilers

	Control	NGP
Body weight, g		
Day 1	40.22	40.12
Day 21	671 ^a	689 ^b
Day 42,	1953 ^a	2048 ^b
Average daily weight gain, g		
Day 1-21	30.04 ^a	30.94 ^b
Day 22-42	60.97 ^a	64.55 ^b
Day 1-42	45.55 ^a	47.82 ^b
Average daily feed intake,g		
Day 1-21	45.07	45.31
Day 22-42	128.0 ^a	131.72 ^b
Day 1-42	86.54 ^a	88.51 ^a
Mortality,%	9.50	4.50
Feed conversion ratio		
Day 1-21	1.5 ^a	1.46 ^b
Day 22-42	2.10	2.04
Day 1-42	1.90 ^a	1.87 ^b
EPEF*	221 ^a	249 ^b

NGP- Natural growth promoter consisting of formic, propionic and acetic acids, cinnamaldehyde and permeabilizer

*EPEF = European Production Efficacy Factor (Livability [%] x BW[kg] / age[d] / FCR) x 100

^{ab} Means in the same row with no common superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

Table 3: *E. coli*, *Salmonella* spp., *Lactobacillus* spp. and *Clostridium perfringens* count in cecum, lg(CFU/g)

	Control	NGP
Day 21		
<i>E. coli</i>	8.356 ^a	7.643 ^b
<i>Salmonella</i> spp.	7.325 ^a	6.781 ^b
<i>Lactobacillus</i> spp.	7.825 ^A	8.827 ^B
<i>Clostridium perfringens</i>	7.901 ^a	7.497 ^b
Day 42		
<i>E. coli</i> , d 42	8.455 ^a	7.842 ^b
<i>Salmonella</i> spp.	7.287 ^a	6.812 ^b
<i>Lactobacillus</i> spp.	8.262 ^A	9.115 ^B
<i>Clostridium perfringens</i>	8.545 ^a	7.798 ^b

NGP- Natural growth promoter consisting of formic, propionic and acetic acids, cinnamaldehyde and permeabilizer

^{ab} Means in the same row with no common superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

^{AB} Means in the same row with no common superscripts are significantly different ($P < 0.01$)

Permeabilizing substances damage the outer membrane of Gram-negative bacteria. This makes the bacteria more susceptible to hydrophobic antimicrobials (Alakomi, 2001). The effect of OA and CA on the inhibition of *E. coli* and *Salmonella typhimurium* can be synergistically improved by the inclusion of PS due to an increase in outer membrane permeability (Rimensperger *et al.*, 2012). The results of the same study carried out with piglets are in accordance with the results of the current study. In both studies, supplementation of the diet with OA, CA and PS increased the growth performance of animals by modulating the GIT microbiome. Rimensperger *et al.* (2012) reported that that *E. coli* and *Salmonella* in the ileum of pigs were combated successfully by a combination of OA, CA and PS. The addition of OA, CA and PS also increased the amount of beneficial bacteria in the ileum of pigs. These results are in accordance with the current study with the same product: the supplemented combina-

tion of OA, CA and PS to broilers led to the reduction of *E. coli*, *Salmonella spp.* and *Clostridium perfringens* in the cecum. The amount of Lactobacilli was higher in the group fed OA, CA and PS in comparison to the negative control. Improved growth performance parameters were evident at day 21 and day 42 of the current study, which indicates the importance of the use of NGP for the entire production period. Similar results were achieved in the study described by Bozkurt *et al.* (2012) where OA improved live weight significantly at both 21 and 42 days of age compared with the control.

Conclusion

The results showed that supplementing the poultry diet with NGP increased poultry growth performance improving the final weight, average daily gain and feed conversion ratio. The NGP increased the amount of Lactobacillus spp., and decreased the amount of *E. coli*, *Salmonella spp.* and *Clostridium perfringens* in the cecum. These results of the present study might indicate the improved growth performance in broilers due to the change in the intestinal microbiome by inhibiting pathogenic bacteria while supporting beneficial bacteria.

References

- Alakomi H.L. Weakening of the Gram-negative bacterial outer membrane. PhD, 2001 Helsinki, Norway.
- Bozkurt M., Küçükylmaz K., Çatli A.U., Çınar M. The effect of single or combined dietary supplementation of prebiotics, organic acid and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers. 2009. South African Journal of Animal Science 39: 3
- Cánovas M., Torroglosa T., Iborra J.L. Permeabilization of Escherichia coli cells in the biotransformation of trimethylammonium compounds into L-carnitine. 2005. Enzyme and Microbial Technology 37:300–308.
- Council regulation 98/2821/CEE. Official Gazette of European Community, No. L 351, 29 December, 1998. Luxembourg. Office for Official Publications of the European Communities.
- Dibner J.J., Buttin P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on Nutrition and metabolism. 2002. Applied Poultry Research 11: 453–463.
- Domadia P., Swarup S., Bhunia A., Sivaraman J., Dasgupta D. Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. 2007. Biochemical Pharmacology 74:831–840.
- Eidelsburger U., Kirchgessner M. Zum Einfluß organischer Säuren und Salze im Futter auf die Mastleistung von Broilern. 1994. Archiv für Geflügelkunde 58:268-277.
- Garrido M.N., Skjervheim M., Oppegaard H., Sorum H. Acidified litter benefits the intestinal flora balance of broiler chickens. 2004. Applied and Environment Microbiology 70: 5208-5213.
- Gunal M., Yayli G., Kaya O. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. 2006. International Journal of Poultry Science, 5(2): 149-155.
- Khachatourians G.G. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. 1998. Canadian Medical Association 159: 1129–1136.
- Langhout P. New additives for broiler chickens. 2000. Feed Mix Special. Alternatives to antibiotics 24-27.
- Moore P.R., Evenson A., Luckey T.D. Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick, 1946. The Journal of Biological Chemistry 165:437-441.
- Mroz Z. Supplementary organic acids and their interactive effects with microbial phytase in diets for pigs and poultry. 2000. Proceedings Annual Conference Phytase in Animal Nutrition, Lublin, Poland. p. 1
- Namkung H., Li M., Yu H., Cottrill M., Gong J., deLange, C.F.M. Impact of feeding blends of organic acid or herbal extracts on growth performance, gut microflora and digestive function in newly weaned pigs. 2003. Proceedings of the 9th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs 2:93–95.
- Overland M., Granli T., Kjos N.P., Fjetland O., Steien S.H., Stokstad M. Effect of dietary formates on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora and stomach alterations in growing-finishing pigs. 2000. Journal of Animal Science 78:1875-1884.

Owens B., Tucker L., Collins M.A. Effects of different feed additives alone or in combination on broiler performance, gut microflora and ileal histology. 2008. *British Poultry Science*. 49(2): 202–212.

Pirgozliev V., Murphy T.C., Owens B. Fumaric and sorbic acid as additives in broiler feed. 2008. *Research in Veterinary Science* 84: 387–394.

Ricke S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. 2003 *Poultry Science* 82:632-639.

Smith M.G., Jordan D., Chapman T.A. Antimicrobial resistance and virulence gene profiles in multi-drug resistant enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs with post-weaning diarrhea. 2010. *Veterinary Microbiology* 145(3-4): 299-307.

Van Den Bogaard A. E., Stobberingh E. E. Antibiotic usage in animals, impact on bacterial resistance and public health. 1999. *Drugs* 58: 589-607.

World Health Organization. WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2.

Corresponding author

Nataliya Roth
BIOMIN Holding GmbH
Industriestrasse 21; A-3130 Herzogenburg
E-mail: nataliya.roth@biomin.net

RONOZYME® HiPhos



The fittest phytase – evolved to give you more

novozymes 



Customers are always looking for greater efficiency. Ronozyme® HiPhos is the result of our commitment to developing the most effective phytases possible, delivering ever-greater benefits. Increased production with less environmental impact. This is exactly what RONOZYME® HiPhos delivers, taking phytase performance to a whole new level allowing replacement of significantly more inorganic phosphorus in swine and poultry diets, giving faster growth and optimized feed cost savings.

DSM Nutritional Products Ltd
PO Box 2676, CH-4002 Basel, Switzerland
www.dsmnutritionalproducts.com

HEALTH • NUTRITION • MATERIALS



The effect of addition of taurine in the diet on antioxidant activity by FRAP (Ferric reducing antioxidant potential)

**Kateřina Lukešová, Richard Krobot, Veronika Mlejnková,
Martina Fröhdeová and Ladislav Zeman**

Department of Animal Nutrition, Mendel University in Brno, CZ

Abstract

The work aimed at detecting the influence of taurine addition on the antioxidant activity established by FRAP (ferric reducing antioxidant potential - the ability of antioxidants to reduce ferric ions). Experimental animals were males of the common laboratory rat (*Wistar Han*), which received feed mixtures with taurine added at 1000 mg, 1500 mg, 2000 mg, 2500 mg and 3000 mg. The animals were divided into six groups, each of 8 animals. The duration of the experiment was 28 days.

Our research results demonstrated positive relations between the level of taurine and antioxidant activity. The results show a significant effect of taurine on the antioxidant activity established by FRAP at a level of significance $P \geq 0.01$. A statistically significant difference in establishing the antioxidant activity by means of FRAP was observed between group G10 (14.22 GAE $\mu\text{g/ml}$) was statistically significantly lower than the average of groups G20 (18.40 GAE $\mu\text{g/ml}$), G25 (19.20 GAE $\mu\text{g/ml}$) and G30 (20.62 GAE $\mu\text{g/ml}$).

Introduction

The work aimed at detecting the influence of taurine addition on the antioxidant activity established by FRAP (ferric reducing Antioxidant Potential - the ability of antioxidants to reduce ferric ions). Taurine is a ubiquitous substance that contains sulfur and is considered an essential nutrient, some animal species. The largest concentration of taurine is found in cardiac and skeletal muscle. Taurine acts in many physiological processes, including cell membrane stabilization, osmoregulation, antioxidant and others and also affects the calcium-homeostasis (Thurston et al., 1980). Monson (1969) describes as one of the unidentified growth factors.

Material and methods

The aim of this study was to determine the effect of the addition of taurine content on the antioxidant activity established by FRAP (ferric reducing antioxidant potential).

The experimental animals were growing males of the common laboratory rat (*Wistar han* outbred phylum), which were introduced into the trial at an age of 28 days and grouped so that a maximum weight difference between the experimental groups was up to 5 g (KACEROVSKY, 1990).

The experimental monitoring lasted for 28 days. The rats were kept in plastic cages by eight males each and they were marked by colours for easy resolution. In total there were 48 animals divided into 6 groups by 8 males. Feeding rations were composed of unobjectionable components and differed only in the addition of taurine (see Table 1).

Parameters monitored during the experiment were as follows: net intake of experimental feed mixtures, health condition, weight increment, feed intake and conversion. The litter for the animals was replaced once a week. Feed leftovers of each group were collected and weighed.

The haematological examination was made with 2 ml of whole blood sampled into a test-tube with EDTA and we established antioxidant activity by FRAP. The experiment was ended by heart puncture, collection of blood samples, brain and liver samples and by the subsequent freezing of the remaining body parts.

Laboratory tests were performed at the Department of Chemistry and Biochemistry at Mendel University in Brno. The data were statistically analyzed in STATISTICA 10 and contrasts between means were evaluated Tukey test.

Table 1: Level of taurine in diets for rats

Group	TAU (mg)
G10 (TAU2)	1000
G15 (TAU3)	1500
G20 (TAU4)	2000
G25 (TAU5)	2500
G30 (TAU6)	3000

Results and discussion

In our experiment, we found a positive influence of taurine on the antioxidant activity by FRAP. Evaluation and statistical processing of the results of determination of antioxidant activity using the ability of antioxidants to reduce ferric ions (FRAP) in erythrocytes, we have found, that group G10 (14,22 GAE $\mu\text{g}/\text{ml}$) was statistically significantly lower than the average of groups G20 (18,40 GAE $\mu\text{g}/\text{ml}$), G25 (19,20 GAE $\mu\text{g}/\text{ml}$) and G30 (20,62 GAE $\mu\text{g}/\text{ml}$) and between others were other statistically significant differences (see figure 1 and 2). Statistical results were processed at a level of significance $P \leq 0.01$. The results can be found in Table 2.

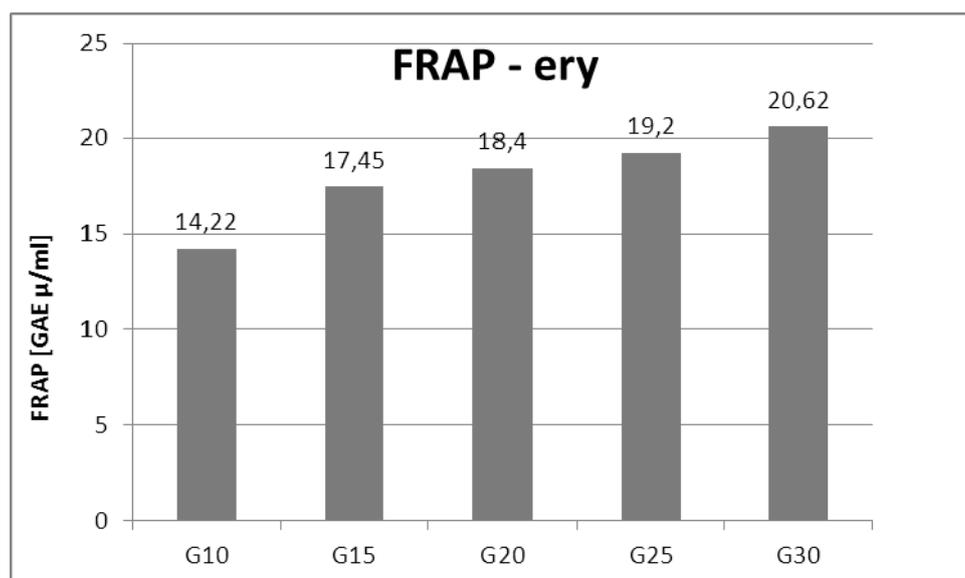


Figure 1: FRAP - erythrocytes

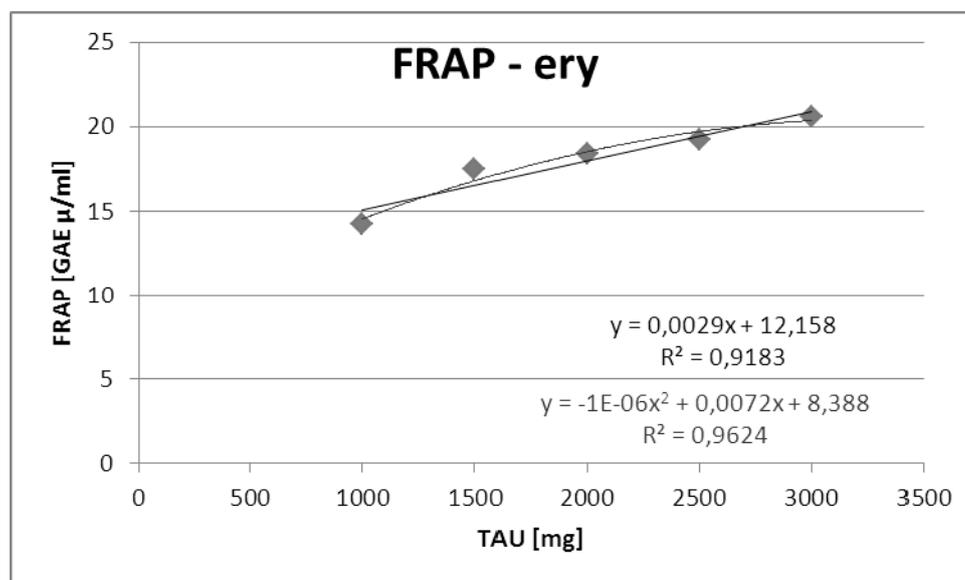


Figure 2: FRAP – erythrocytes

Table 2: Table of results

		G10	G15	G20	G25	G30
FRAP (GAE µg/ml)	Average	14,22	17,45	18,4	19,2	20,62
	Std.Dev	2,250	2,519	2,085	1,536	2,249

Anand et al. (2011) demonstrated the relation between taurine and the antioxidant chain. Their study showed that the long-term peroral administration of taurine to common laboratory rats affected components of the antioxidant chain. Anand et al. (2010) conducted their taurine studies repeatedly and found also the influence of taurine on common haematological parameters. The connection of taurine with the antioxidant chain was also demonstrated by Nandhini et al. (2005), also agree Huxtable (1992). Prasenjit et al. (2008) also mention that taurine helps antioxidant chain. Their research was conducted on mice and also among other things also worked with the FRAP method.

Conclusion

In our experiment, we found a positive influence of taurine on the antioxidant activity. The results show a significant effect of taurine on antioxidant activity determined using the ability of antioxidants to reduce ferric ions (FRAP) at a level of significance $P \geq 0.01$ in erythrocytes. A statistically significant difference in establishing the antioxidant activity by means of FRAP was observed between group G10 (14.22 GAE µg/ml) was statistically significantly lower than the average of groups G20 (18.40 GAE µg/ml), G25 (19.20 GAE µg/ml) and G30 (20.62 GAE µg/ml) and between others were other statistically significant differences. We believe that taurine has an effect on antioxidant activity.

Acknowledgement

The project was supported by IGA MENDELU Brno No IP 6/2012.

References

- ANAND, P., RAJAKUMAR, D., FELIX, A. J., BALASUBRAMANIAN, T. 2010: *Effects of oral administration of antioxidant taurine on haematological parameters in Wistar rats*. Pak J Biol Sci. 13(16):785-93.
- ANAND, P., RAJAKUMAR, D., JERAUD, M., FELIX, A. J., BALASUBRAMANIAN, T. 2011: *Effects of taurine on glutathione peroxidase, glutathione reductase and reduced glutathione levels in rats*. Pak J Biol Sci. 14(3):219-25.
- HUXTABLE, R. J. 1992: *Physiological action of taurine*. Physiol. Rev. 72:101 – 163.
- KACEROVSKY, O. 1990: Testing and assessment of fodders. (*in Czech*), Prague, 1st Edition, SZN:216-217. ISBN 80-209-0098-5.
- MONSON, W. J. 1969: Evidence that *taurine may be one of the elusive unidentified factors*. Poult. Sci. 48:2069–2074.
- NANDHINI, A.T.A., THIRUNAVUKKARASU, V., RAVICHANDRAN, M.K., ANURADHA, C.V. 2005: *Effect of taurine on biomarkers of oxidative stress in tissues of fructose-fed insulin-resistant rats*. Singapore Med J. 46(2):82.
- PRASENJIT, M., MAHUA, S., PARAMES, C.SIL (2008): *Amelioration of cadmium – induced cardiac impairment by taurine*. India, Chemico – Biological Interactions. 174:88 – 97.
- THURSTON, J. H., HAUHART, R. E. and DIRGO, J. A. 1980. *Taurine: A role in osmotic regulation of mammalian brain and possible clinical significance*. Life Sci. 26:1561–1568.

Corresponding author

Kateřina Lukešová, Ing.
Department of Animal Nutrition
Mendel University in Brno
Zemědělská 1, 613 00 Brno
E-mail: xlukesov@mendelu.cz

Applikation von pansengeschütztem L-Carnitin bei Milchkühen in der Transitphase und Hochlaktation

Heiko Scholz¹, Elke von Heimendahl² und Frank Menn²

¹ Hochschule Anhalt, Bernburg, DE

² Lohmann Animal Health GmbH, Cuxhaven, DE

Einleitung

Die Transitphase und die Phase der Hochlaktation sind besonders kritisch für die Milchkuh, da hier wesentliche Veränderungen im Metabolismus stattfinden. Der Energiebedarf für die Milchproduktion übersteigt die Energieaufnahme über das Futter zu Laktationsbeginn beträchtlich. Dies mündet in einer mehr oder weniger stark ausgeprägten negativen Energiebilanz (NEB), die die Kuh über Mobilisierung von Fett aus dem Körpergewebe auszugleichen versucht. Exzessive Mobilisierung von Fetten kann die Kapazität der Leber überschreiten und zu einer verstärkten Ketogenese und der Anreicherung von freien Fettsäuren (NEFA) in der Leber führen. Letztere werden zu Triglyceriden konvertiert und in der Leber gespeichert. Etwa 50% der Milchkühe innerhalb der ersten 4 Wochen nach der Kalbung leiden unter dem Fettlebersyndrom (Bobe et al., 2004; Jurritsma et al., 2003). Eine eingeschränkte Leberfunktion steht in engem Zusammenhang mit der Entwicklung anderer postpartaler Erkrankungen wie Ketose, Metritis, Mastitis, Labmagenverlagerung, Immunsuppression sowie Fruchtbarkeitsproblemen.

L-Carnitin dient als Co-Faktor für aktivierte Fettsäuren und hat daher einen direkten Einfluss auf den Fettstoffwechsel (Drackley et al., 1991a,b; Owen et al., 2001). Von Bedeutung ist außerdem die Pufferfunktion des Carnitins für Acetylreste aus dem Fettabbau, da so die Ketonkörperbildung reduziert wird (Harmeyer & Schlumbohm, 1997). Das aufgrund dieser Pufferfunktion veränderte Verhältnis zwischen Acetyl-CoA und CoA erhöht die β -Oxidation und stimuliert den Kohlenhydratstoffwechsel (Rebouche & Seim, 1998).

Da ca. 80% des über die Nahrung zugeführten Carnitins von Pansenmikroben abgebaut werden (LaCount et al., 1996) ist es notwendig, das Carnitin in einer pansengeschützten Formulierung zu ergänzen.

Ziel der Studie war, den Einfluss eines pansengeschützten Carnitinproduktes auf Leistung und ausgewählte Stoffwechsellparameter während der Transitphase und der Hochlaktation zu untersuchen.

Material und Methoden

262 HF Kühe wurden entsprechend ihrer Laktationsnummer und vorherigen Milchleistung in 2 Gruppen aufgeteilt. Die Fütterung erfolgte in Form einer TMR (Tabelle 1 und 2). Die Rationen waren so formuliert, dass der Bedarf der Tiere laut der GfE Bedarfsnormen (GfE, 2001) gedeckt war. Die analysierten Nährstoffgehalte der Rationen sind in Tabelle 2 ausgewiesen. In der Carnitin-Gruppe (CP) erhielten die Tiere 10g eines pansengeschützten Carnitinproduktes (Carnipass, Lohmann Animal Health GmbH, Carnitingehalt 20%) pro Kuh und Tag, Die Tiere der Kontrollgruppe (C) erhielten statt dessen 10 g Gerstenschrot. Alle Kühe wurden in einem Laufstall unter gleichen Bedingungen gehalten.

Milchmenge, Zellzahl, Milchfett, Milchprotein und Harnstoff wurden im Rahmen dreier aufeinander folgender Milchkontrollen (MLP 1-3) von allen 262 Kühen ermittelt. Die Blutproben wurden von 110 zufällig ausgewählten Kühen aus der Gesamtzahl von 262 Kühen eine Woche a.p., eine Woche p.p.,

5 Wochen p.p. und 9 Wochen p.p (BS 1-4) genommen und auf NEFA, BHB, Cholesterin, GLDH und Bilirubin im Labor des TGD Jena analysiert.

Zusätzlich wurde die Anzahl der notwendigen Behandlungen der Kühe, getrennt nach Behandlungen aufgrund von Fruchtbarkeitsproblemen und Euterproblemen ausgewertet. Rastzeit, Besamungsindex und Gesamtbesamungserfolg wurden ebenfalls ermittelt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Rationen (% und kg/Tag)

	Transitphase	Hochlaktation
Grassilage	37,3 % (12,0 kg)	21,2 % (13,3 kg)
Maissilage	43,5 % (14,0 kg)	41,1 % (25,8 kg)
Heu	3,1 % (1,0 kg)	1,0 % (600 g)
Stroh	3,9 % (1,3 kg)	0,6 % (350 g)
Milchleistungsfutter 18/4		0,4 % (250 g)
Zuckerrübenschnitzel		1,8 % (1,1 kg)
Protein Konzentrat*	1,2 % (400 g)	3,9 % (2,4 kg)
UDP Konzentrat**	6,2 % (2,0 kg)	4,6 % (2,9 kg)
Gerstenschrot	2,3 % (750 g)	2,8 % (1,8 kg)
Mineralfutter	2,3 % (750 g)	0,3 % (200 g)
Geschütztes Fett		0,3 % (200 g)
Salz	0,1 % (40 g)	0,1 % (50 g)

*7,5 MJ NEL, 22.0% XP, 195g nXP, 4g RNB

**7.2 MJ NEL, 40% XP, 3% XL, 8.5 % XF, 260g nXP, 22g RNB

Tabelle 2: Analysierte Nährstoffgehalte der Rationen

	Transitphase	Hochlaktation
NEL (MJ)	6,0	6,6
DM (g/kg)	452	443
XP (g/kg)	135	158
XF (g/kg)	218	192
XL (g/kg)	27	31
Zucker(g/kg)	24	34
Stärke (g/kg)	199	200
Zucker+Stärke (g/kg)	223	234
XA (g/kg)	78	78
nXP(g/kg)	138	152
Ruminale N-Bilanz	-0,4	1,0
Calcium (g/kg)	5,9 ± 0,3	7,7 ± 2,0
Phosphor (g/kg)	3,6 ± 0,4	4,5 ± 0,6
Natrium (g/kg)	2,9 ± 2,0	3,2 ± 0,9
Magnesium (g/kg)	2,3 ± 0,2	3,0 ± 0,5
Kalium (g/kg)	16,4 ± 1,3	14,4 ± 1,8
Chlor (g/kg)	6,6 ± 3,7	6,9 ± 1,2
Schwefel (g/kg)	1,8 ± 0,1	2,2 ± 0,3
DCAB (meq/kg)	248 ± 52	183 ± 40

Nur Kühe mit 3 kompletten Milch- und 4 Blutproben wurden in die statistische Auswertung einbezogen.

Die Auswertung der Daten erfolgte mit SPSS, Version 20 unter Verwendung einer einfachen Varianzanalyse mit randomisierten Blöcken und des Kolmogorow-Smirnow-Tests bei $p \leq 0,05$.

Ergebnisse

249 der 262 Kühe konnten für die Auswertung herangezogen werden, 131 der Kontroll- und 118 der Carnitingruppe. Blutparameter wurden von 89 Kühen ausgewertet (51 in der Kontroll- und 38 in der Carnitingruppe). Der Ausschluss der Tiere von der Auswertung des Versuches war nicht auf die Ergänzung zurückzuführen, sondern auf Verschiebungen des Abkalbetermines, der zu einer signifikanten Reduzierung der Dauer der Carnitinsupplementierung führte. Die CP-Gruppe zeigte eine tendenziell erhöhte Milchleistung im Vergleich zur C-Gruppe (Tabelle 3). Die Milchfettgehalte der Kühe der Kontrollgruppe waren leicht erhöht, die Milchproteingehalten dagegen teilweise signifikant erniedrigt. Dies führte zu einem geringeren Fett/Protein-Quotient der Carnitingruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Zellzahlgehalte in der CP-Gruppe zum Zeitpunkt der 1. und 2. Milchkontrolle liegen tendenziell niedriger.

Tabelle 3: Milchmenge und Milchinhaltsstoffe der Kühe beider Gruppen

	MLP 1		MLP 2		MLP 3	
	C	CP	C	CP	C	CP
Milchmenge	34,7	35,7	37,5	38,7	35,8	35,9
Milchfett, %	4,23	4,09	3,83	3,75	4,02	3,92
Milchprotein, %	3,23	3,22	3,05	3,10	3,25 ^a	3,31 ^b
Fett/Proteinverhältnis	1,3	1,3	1,3 ^a	1,2 ^b	1,3 ^a	1,2 ^b
Zellzahl/ml	471.000	374.000	298.000	220.000	278.000	282.000

^{a,b} Mittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$)

Die Carnitinerfüllung führte über die gesamte Versuchsperiode zu erniedrigten NEFA Gehalten im Blut (Tabelle 4). Bei mehrkalbigen Kühen waren diese Unterschiede in der 1. Woche a.p. signifikant (0,37 mmol/l in der C; 0,29 mmol/l in der CP Gruppe). Zudem wurde ein Trend zu geringeren Plasma BHB Gehalten der CP Tiere in Woche 5 und 9 p.p. festgestellt. Auch wenn bei Betrachtung aller Kühe kein Einfluss der CP Ergänzung auf den Cholesteringehalt festzustellen war, wurden bei den Jungkühen signifikant geringere Gehalte in der 1. Woche p.p. gefunden (2,7 versus 2,1 mmol/l).

GLDH im Blut der Carnitingruppe war eine Woche a.p. signifikant reduziert und verblieb während der gesamten Versuchsperiode auf einem geringeren Niveau. Die Werte für Bilirubin unterschieden sich zwischen beiden Gruppen in der 5. Woche p.p. signifikant (Tabelle 4).

Tabelle 4: Einfluss der Carnitinerfüllung auf verschiedene Blutparameter

	BS 1		BS 2		BS 3		BS 4	
	C	CP	C	CP	C	CP	C	CP
NEFA, mmol/l	0,37	0,31	0,60	0,51	0,37	0,30	0,28	0,25
BHB, μ mol/l	663	668	731	739	659	575	802	737
Cholesterin, mmol/l	2,5	2,3	2,3	2,1	4,2	3,9	5,1	4,8
LDH, nkat/l	293 ^a	177 ^b	381	290	514	413	422	397
Bilirubin, μ mol/l	3,5	3,4	4,4	4,3	3,4 ^a	2,6 ^b	5,1	4,8

^{a,b} Mittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$)

Von den 249 ausgewerteten Milchkühen in den Untersuchungen wurden im Verlauf der ersten 100 Tage der Laktation 237 Tiere mindestens 1x behandelt. Zwischen den Gruppen ergaben sich signifikante Differenzen, wobei die Kühe der Kontrollgruppe durchschnittlich 0,47-mal mehr behandelt wurden (Abbildung 1). Zwischen den Gruppen konnten ebenfalls signifikante Unterschiede in der Behandlung von Fruchtbarkeits- und Euterproblemen nachgewiesen werden.

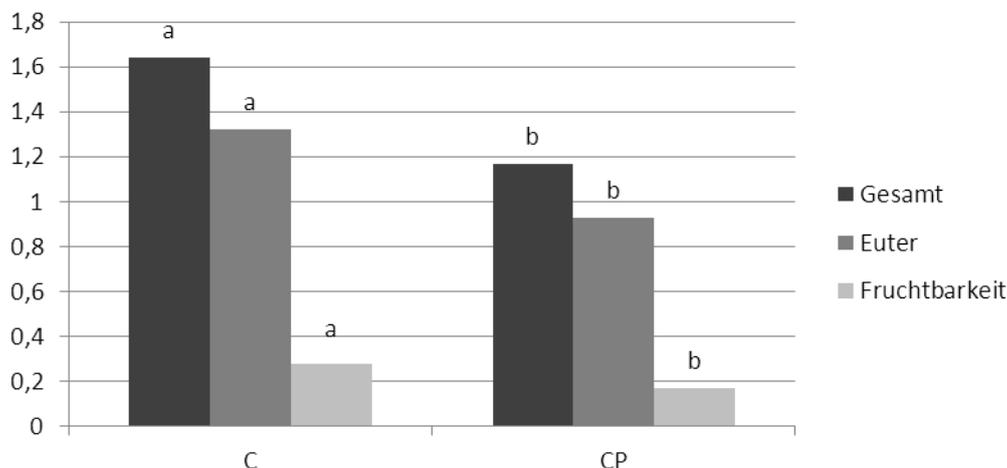


Abbildung 1: Einfluss der Carnitinerdüngung auf die Anzahl der Behandlungen pro Kuh. ^{a,b} Mittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$)

Die Carnitinerdüngung zeigte auch einen Einfluss auf die Fruchtbarkeit der Tiere. Auch wenn für die Rastzeit der Kühe kein signifikanter Einfluss der Behandlung festgestellt werden konnte, zeigte die CP Gruppe einen tendenziell geringeren Besamungsindex als die C-Gruppe. Die Konzeptionsrate lag dagegen in der CP-Gruppe signifikant über der der Kontrolle.

Tabelle 6: Einfluss der Carnitinerdüngung auf Fruchtbarkeitsparameter

	C	CP
Rastzeit (Tage)	75 ± 35	74 ± 33
Besamungsindex	2,3	1,9
Konzeptionsrate	70 ^a %	86 ^b %

^{a,b} Mittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$)

Diskussion

Die Carnitinerdüngung führte zu keiner signifikanten Erhöhung der Milchmenge. Dies deutet darauf hin, dass die Milchleistung zunächst einmal mehr oder weniger unabhängig von der Stoffwechsellage der Kuh ist. Als Ergebnis eines leicht reduzierten Fett- aber erhöhten Proteingehaltes in der Milch der Kühe der Carnitinerdüngungsgruppe war das Fett/Proteinverhältnis signifikant reduziert. Ein reduzierter Milchfettgehalt und ein geringeres Fett/Proteinverhältnis deuten auf eine geringere Fettmobilisierung möglicherweise als Ergebnis eines verbesserten Fettstoffwechsels und dadurch geringerer NEB aufgrund der Carnitinerdüngung hin.

Der Zellzahlgehalt der ersten und zweiten Milchkontrolle nach der Kalbung war in der CP Gruppe tendenziell niedriger als in der Kontrollgruppe. Auch wenn diese Unterschiede nicht signifikant waren, ist bekannt, dass eine negative Energiebilanz und eine damit häufig einhergehendes subklinische Ketose einen negativen Einfluss auf die Eutergesundheit haben (Leslie et al., 2000; Suryasathaporn et al., 2000).

Die geringeren NEFA, BHB und Cholesteringehalte in der CP Gruppe des vorliegenden Versuchs wurden auch von anderen Autoren bestätigt, wenn Carnitin in ähnlichen Dosierungen gegeben wurde (Carlson et al., 2007) oder intravenös (Erflle et al., 1971) verabreicht wurde. Carlson et al. (2007) konnten auch zeigen, dass als Folge geringerer NEFA Konzentrationen durch Carnitinsupplementie-

zung der Gesamtfettgehalt und der Triglyceridgehalt der Leber signifikant verringert wurde, während gleichzeitig der Glykogengehalt erhöht wurde.

Die Blut-GLDH Werte der CP Gruppe waren eine Woche a.p. signifikant reduziert und verblieben während des gesamten Versuchs auf einem niedrigeren Niveau. Laut Kraft & Dürr (2005) ist ein Anstieg an GLDH ein Indikator für eine erhöhte Leberbelastung, wie sie als Folge einer Lipomobilisations-abhängigen Fettleber beschrieben wird (Rehage 1996). Die Bilirubinwerte unterschieden sich zwischen den Gruppen in der 5. Woche p.p. signifikant. Erhöhte Bilirubinwerte werden ebenfalls immer im Zusammenhang mit dem Fettlebersyndrom beobachtet (Kraft & Dürr, 2005; Rehage 1996). Geringere NEFA Gehalte in der carnitinsupplementierten Gruppe und dadurch eine geringere Leberbelastung sind wahrscheinlich der Grund für die geringere GLDH und Bilirubingehalte in dieser Gruppe.

Gesundheit und Fruchtbarkeit von Milchkühen stehen in engen Zusammenhang mit der Ausprägung der NEB (Jorritsma et al. 2003). Die Fruchtbarkeit wird vor allem durch Veränderungen des IGF Systems während der Phase der NEB beeinflusst (Butler, 2003; Llewellyn et al., 2007). Es ist zu vermuten, dass über den Einsatz von Carnitin und die damit verbundene positive Wirkung auf Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel die Periode der extremen NEB verringert wurde. Dies wird durch die geringere Fettmobilisation in der CP-Gruppe unterstützt. Zusätzlich könnte Carnitin auch bei der Milchkuh einen direkten Einfluss auf das IGF-System haben. Dieser wurde bei anderen Tierarten bereits nachgewiesen (Waylan et al., 2005). Auch Veränderungen in der Expression polymorpher Gene, die sowohl den Fettstoffwechsel als auch Fruchtbarkeitsparameter beeinflussen, könnten die Ursache für die Verbesserung der Fruchtbarkeit in der Carnitingruppe sein (Wathes et al., 2012).

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass die Ergänzung von Carnitin die Stoffwechselsituation der Milchkuhe innerhalb der ersten 2 Monate nach der Kalbung wesentlich verbessert und infolgedessen auch die Fruchtbarkeit der Tiere erhöhte.

Pansengeschütztes Carnitin kann damit einen wesentlichen Beitrag zur Entlastung des Stoffwechsels leisten und Gesundheit und Tierleistung positiv beeinflussen.

Literatur

- Bobe G., J.W. Young, D.C. Beitz, 2004. Pathology, etiology, prevention and treatment of fatty liver in dairy cows. J.Dairy Sci. 87:3105-3124
- Butler, W. R., 2003: Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. Livestock Prod. Sci. 83, 211-218
- Carlson, D.B., J.W. McFadden, A.D'Angelo, J.C. Woodworth, J.K. Drackley., 2007. Dietary L-carnitine affects periparturient nutrient metabolism and lactation in multiparous cows. J.Dairy Sci. 90:3422-3441
- Drackley, J. K., D. C. Beitz, and J. W. Young. 1991a. Regulation of *in vitro* palmitate oxidation in liver from dairy cows during early lactation. J. Dairy Sci. 74:1884-1892
- Drackley, J. K., D. C. Beitz, and J. W. Young. 1991b. Regulation of *in vitro* metabolism of palmitate by carnitine and propionate in liver from dairy cows. J. Dairy Sci. 74:3014-3024.
- Erfle, J.D., L.J. Fisher, F.Sauer, 1971. Effect of infusion of carnitine and glucose on blood glucose, ketones and free fatty acids of ketotic cows. J. Dairy Sci. 54 (5):673-679
- GfE 2001, Empfehlungen zur Energie und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder, DLG-Verlag, Frankfurt am Main
- Harmeyer, J. and C. Schlumbohm, 1997. Die physiologische Bedeutung von L-Carnitin und Effekte von Carnitinzulagen bei Haustieren. In: R. Schubert, G. Flachowsky, R. Bitsch and G. Jahreis (Eds.) Vitamine und Zusatzstoffen in der Ernährung von Mensch und Tier. 6. Symposium Jena, Thüringen, 42-61
- Jurritsma, R., T.Wensing, T.A.M. Kruip, P.L.A. Vos, J.P.T.M. Noordhuisen, 2003. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. Vet. Res. 34:11-26
- Kraft, W. and Dürr, U.M., 2005. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 6. Auflage 2005

- Llewellyn, S., R. Fitzpatrick, D.A. Kenny, J.J. Murphy, R.J. Scaramuzzi, and D.C. Wathes, 2007. Effect of negative energy balance on the insulin-like growth factor system in pre-recruitment ovarian follicles of post partum dairy cows. *Reproduction* (133): 627-639
- LaCount, D.W., L.D. Ruppert, and J.K. Drackley, 1996. Ruminal degradation and dose response of dairy cows to dietary L-carnitine. *J. Dairy Sci.* 79:260-269
- Leslie, K.E., T.F. Duffield, Y.H.Schukken, S.J. LeBlanc, 2000. The influence of negative energy balance on udder health. *National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings, NMC publications*, 25-33
- Owen K.Q., H.Ji, C.V. Maxwell, J.L.Nelssen, R.D. Goodband, M.D.Tokach, G.C.Tremblay, and S.I. Koo., 2001. Dietary L-carnitine supresses mitochondrial branched chain keto acid dehydrogenase activity and enhance protein accretion and carcass characteristics of swine. *J. Anim. Sci.* 79:3104-3112
- Rebouche, C.J., and H. Seim, 1998. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annu.Rev.Nutr.* 18:39-61
- Rehage, J., 1996. Untersuchungen zur Leberfunktion von Milchkühen mit Leberverfettung am Modell von Patienten mit linksseitiger Labmagenverlagerung. *Tierärztl. Hochschule Hannover, Habil. thesis*
- Suryasathaporn, W., C. Heuer, E.N. Noordhuizen-Stassen, Y.H. Schukken, 2000. Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review , *Vet. Res.* 31:397-412
- Wathes, D.C., Clempson, A.M., and Pollott, G.E., 2012. Associations between lipid metabolism and fertility in the dairy cow. *Reprod Fertil Dev.* 2012;25(1):48-61
- Waylan, A.T., J.P. Kayser, D.P. Gnad, J.J. Hggns, J.D. Starkey, E.K. Sissom, J.C. Woodworth and B.J. Johnson, 2005. Effects of L-carnitine on fetal growth and the IGF system in pigs. *J. Anim. Sci* 83:1824-1831

Autorenanschrift

Elke von Heimendahl
Lohmann Animal Health GmbH
Heinz-Lohmann Str. 4; D-27472 Cuxhaven
E-Mail: elke.von.heimendahl@lohmann.de

Influence of an antioxidant supplementation on oxidative status and adipose and liver transcriptome in early lactation dairy cattle

J.P. McNamara¹, J. Thomson² and E. von Heimendahl³

¹ Washington State University, Pullman, US

² Montana State University, Bozeman, US

³ Lohmann Animal Health GmbH, Cuxhaven, DE

Introduction

During the transition from pregnancy to lactation, dairy cows are susceptible to numerous disorders. The onset of milk synthesis requires huge amounts of oxygen for aerobic metabolism. This results in free radical formation as normal end product of cellular metabolism (Bernabucci et al., 2005, Valko et al., 2007). When the production of reactive oxygen species (ROS) exceeds the capacity of the endogenous radical defense system (eRDS) oxidative stress will develop. Oxidative stress is strongly related to the health status of dairy cows, and result in an impaired immune response and increased inflammation processes such as mastitis. Studies have shown a number of changes in gene expression in adipose tissue (Sumner-Thomson et al., 2011) and the mammary gland (Aitken et al., 2009) during transition in dairy cattle of molecules affecting inflammation and immunity.

Vitamin E is an important nutrient to allow for the optimum immune and inflammatory state of dairy cattle as it is part of the eRDS. Commonly, vitamin E level in feed exceeds the physiological requirements of the animals by far. High vitamin E supplementation is supposed to have so-called "add-on effects" such as improved immune competence, improved udder health and better meat quality (Smith et al., 1997, LeBlanc et al., 2004).

Vitamin E is also an expensive ingredient, and cost pressure on dairy feed dictates the need to maintain the health of cows while maintaining profitability. In addition vitamin E is mainly supplemented as vitamin E acetate. It obtains its antioxidative properties only after the acetate groups have been hydrolysed in the small intestine.

In order to prevent oxidation of feed during storage and within the intestinal tract it is necessary to add effective antioxidants to the feed. Supplemented antioxidants scavenge the ROS and are able to protect the nutrients by simultaneously sparing vitamin E in the digestive tract. If less vitamin E is consumed within the GI tract there will be increased vitamin E transfer to body tissues, less ROS in blood and body tissues and improved eRDS. Reduced oxidative stress results in the reduction of inflammatory processes, improved udder health and improved overall animal efficiency.

The aim of this study was to show the effect of an antioxidant or a high vitamin E supplementation on oxidative status of dairy cows during the transition and high lactation period.

Material and methods

Sixty cows were allotted to 3 treatments. The study was a randomized complete block. Cows were blocked by parity (1st, 2nd and 3rd) and previous performance (multiparous cows). Cows were fed a TMR ad libitum to requirements from 14 prepartum until 84 days in milk (DIM) as presented in table 1 and 2. Treatments were the control ration providing 1000 IU/d of Vitamin E (C); the antioxidant

treatment (AO) providing 1000 IU/d Vitamin E plus 150 mg of an antioxidant blend consisting of natural and synthetic antioxidants (Loxidan, Lohmann Animal Health, Cuxhaven) per kg DM and a high vitamin E treatment (HE) providing 3000 IU/d Vitamin E.

Table 1: Composition of the control diet (% and kg DM/day)

	Dry Period	Lactation
Timothy hay	22.6 % (3.16 kg)	1.8 % (0.45 kg)
Corn silage	25.8 % (3.61 kg)	18.8 % (4.77 kg)
Alfalfa hay	25.8 % (3.61 kg)	12.1 % (1.0 kg)
Distiller's Dried Grains	--	1.3 % (1.3 kg)
Concentrate*	25.8 % (3.61 kg)	38.2 % (9.67kg)

* Dry period grain mix contains 22.5 % corn, 54.6 % barley, 12.5 % soybean meal, 1.25 % limestone, 1 % trace mineral salt with Se, 0.1 % each of Vit. A and D premix, 1.25 % MgO and 1.4 % yeast XP; Lactation grains mix contains 19.1 % corn, 56.4 % barley, 8.9 % cull peas, 6.4 % SBM, 0.85 % limestone, 0.75 % TM sale with Se, 2.13 % NaBicarbonate, 0.21 Vit A premix, 0.05 % Vit D; 0.64 % MgOx, 2.5 % megalac, 1.07 % dicalcium phosphate, 0.2 % bloatguard and 0.015 % selenoyeast

Table 2: Analyzed nutrient content the control diet

	Transition	Lactation
NEL (MJ)	6,0	6,7
DM (g/kg)	452	520
Crude protein (g/kg DM)	143	176
NDF (g/kg DM)	335	238
Ether extract (g/kg DM)	27	39
Starch (g/kg DM)	127	232

Feed intake was measured on individual animals through the use of Calan gates and a DataRanger feeding system.

Milk yield was measured daily through in line milk scales. Milk components (protein, lactose, fat, milk urea nitrogen) and somatic cell count (SCC) were measured through monthly milk controls.

Animal body weights and body condition score (BCS) was determined at 28, 21, 14, 7 days prepartum, at calving and 7, 14, 21, 28, 56 and 84 days postpartum.

Blood samples for analysis of Serum glucose, NEFA, BHB, Vitamin E and advanced oxidation protein products (AOPP) were taken of a subset of 10 animals per treatment, evenly spread across parity at days 21 prepartum, and 7 and 56 postpartum.

Vitamin E was analyzed by HPLC. AOPP were determined by a modified version of the method of Celi et al. (2011).

Adipose and liver samples were taken at 7 and 28 days in milk (DIM). RNA was prepared and analyzed on the Affymetrix Bovine gene array chip and the data were analyzed using Genesifter by Geospiza.

Data were analyzed as a randomized complete block with repeated measures using PROC GLM of SAS.

Results

There was no effect of treatment on DMI, body weight and BCS in any parity group.

Milk production was the same in multiparous cows on all treatments (35.0 +/- 1.2 (SEM) kg/d). However, in 1st lactation animals milk production was highest ($P < 0.01$) in animals on the high Vitamin E, lowest on the lower Vitamin E and intermediate on the AO treatment. There were no effects on milk composition.

Serum glucose, NEFA, or BHBA were also not influenced by treatment. Plasma Vitamin E was higher ($P < 0.01$) in animals fed high Vitamin E compared to normal vitamin E or antioxidant treatment. AOPP was lower in animals fed the AO-supplemented or higher Vitamin E diet compared to controls, especially in multiparous animals (Treatment x DIM x parity $P < 0.05$).

The SCC in this herd was fairly low. Primiparous cows had a SCC of 73,000, multiparous cows 58,000. There was a treatment x parity interaction ($P < 0.001$) in that SCC in control 2nd lactation animals was 120,000 and in Loxidan treatment 11,000; high Vitamin E was 46,000.

Analysis of adipose transcriptome showed 27 genes improving response to stress that increased in animals fed the antioxidant blend, examples include interleukin 16, macrophage inflammatory protein 3 and glutathione transferase ($P < 0.05$ for all). In the liver 18 genes controlling antioxidant activity increased in animals fed the antioxidant blend. Higher Vitamin E feeding showed 5 genes controlling immune processes increased compared to control without supplemented antioxidants ($P < 0.05$).

Discussion

The aim of this study was to compare the oxidative status and the expression of inflammation related genes in cows with low vitamin E, low vitamin E plus an antioxidant blend and cows with high vitamin E supplementation.

As expected, the addition of the high vitamin E resulted in an increase in plasma vitamin E levels. In contrast to the common opinion of the vitamin E saving properties of other antioxidants this could not be confirmed in this study.

In general lowest vitamin E levels were found shortly after calving, probably a result of its radical scavenging activity through vitamin E radical formation.

The lower values for AOPPs which are considered as a marker of protein oxidation generated by activated neutrophils and involved in inflammation (Celi et al., 2011) indicate less oxidative stress in the HE and AO group. Feeding higher vitamin E levels has been previously reported to reduce oxidative stress and improve animal health (Miller et al., 1993; Brzezinska-Slebodzinsk et al.1997). Adverse effects of high vitamin E compared to the control diet as recently reported by Bouwstra et al. (2010) were not detected in this study. Reduced oxidative stress as indicated by lower AOPP values for the AO group are in line with Winkler et al. (2010) who found lower dROM values in cows supplemented with synthetic antioxidants.

There are many studies showing increased expression of proinflammatory cytokines during the periparturient period (Aitken et al., 2009, Trevisi et al., 2012). These cytokines are linked to the development of inflammatory diseases such as mastitis. In the current study, differences in the expression of 27 genes related to oxidative status and inflammatory processes in adipose tissue and of 12 in the liver between control and AO group were found. These findings suggest that supplementing a specific antioxidant blend led to improved oxidative status in this study. Even though none of the treatment groups had SCCs indicating increased risk for mastitis, it was shown, that 2nd parity animals in the AO treated group had significantly lower SCCs compared to the control.

In conclusion, dairy cows are exposed to increased oxidative stress during the periparturient period which result in a declined oxidative status and increased expression of proinflammatory genes. The supplementation of vitamin E as well as the antioxidant blend resulted in an improved oxidative status of the cows. The antioxidative blend had also a positive effect on the expression of genes involved in inflammatory processes and oxidative status of the cows which was more pronounced than the effect of the vitamin E. The detailed mode of action of AO supplementation has to be investigated in further trials.

References

- Aitken S.L., E.L. Karcher, P. Rezamand, J.C. Gandy, M.J.VandeHaar, A.V. Capuco, and L. M. Sordillo, 2009. Evaluation of antioxidant and proinflammatory gene expression in bovine mammary tissue during the periparturient period. *J Dairy Sci.* 92:589-598
- Bemabucci, V., B. Ronchi, N. Lacetera, and A. Nardone. 2005. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 88(6):2017-2026.
- Bouwstra, R.J., M. Nielen, J.R. Newbold, E.H.J.M. Jansen, H.F. Jelinek, and T. van Verven, 2010. Vitamin E supplementation during the dry period in dairy cattle. Part II: oxidative stress following vitamin E supplementation may increase clinical mastitis incidence postpartum. *J. Dairy Sci.* 93: 5696-5706
- Brzezinska-Slebodzinsk, E., J.K.Miller, J.D. Quigley, and J.R. Moore, 1997. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium, *J Dairy Sci.* 77: 3087-3095
- Celi, P., M. Merlo, L. Da Dalt, A. Stefani, O. Barbato, and G. Gabai, 2011. Relationship between late embryonic mortality and the increase in plasma advanced oxidised protein products (AOPP) in dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development* 23(4): 527-533
- LeBlanc, S.J., T. H. Herdt, W. M. Seymour, T. F. Duffield, and K. E. Leslie. 2004. Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *J Dairy Sci.*87 (3):609-619.
- Miller J.K. , E. Brzezinska-Slebodzinska, F.C. Madsen, 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dairy Sci.* 76: 2812-2823
- Smith, K.L., J.S. Hogan and W.P. Weiss, 1997. Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *J. Anim. Sci.*, 75:1659-1665.
- Sumner-Thompson, J. M., Vierck, J. L. and McNamara, J.P. 2011. Differential expression of genes in adipose tissue of first lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94 (1) 361-369
- Trevisi, E., M. Amadori, S. Cogrossi, E. Razzuoli, and G. Bertoni, 2012. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. *Res Vet Sci.* 93 (2): 695-704
- Valko, M., D. Leibfritz, J.Moncol, M.T. Cronin, M.Mazur, and J.Telser, 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem- Cell Biol.* 39(1): 44-84
- Winkler, A., J. Trautwein, G. Dusel, H. Sauerwein, A. Holthausen, 2010. Untersuchung zum Einsatz von Antioxidantien in der Milchkuhfütterung. *Forum angewandte Forschung*, Fulda

Corresponding author

Elke von Heimendahl
Lohmann Animal Health GmbH
Heinz-Lohmann Str. 4; D-27472 Cuxhaven
E-mail: elke.von.heimendahl@lohmann.de

Einsatz von nährstoffreduziertem Futter in der Sauenhaltung

Gerhard Stalljohann¹ und Reinhard Schulte-Sutrum²

¹ Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Münster, Referat 33, DE

² Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Bad Sassendorf, Versuchs- und Bildungszentrum Landwirtschaft Haus Düsse, DE

Einleitung

Die Fruchtbarkeits- und Aufzuchtleistungen der Sauen sind in den vergangenen Jahren deutlich gestiegen. Das erfordert eine entsprechend höhere Nährstoffversorgung. Die leistungsgerechte Ausfütterung der Sauen wird zur Herausforderung. Außerdem können die für die gestiegene Anzahl Ferkel benötigten hohen Eiweiß- und Mineralstoffgehalte im Futter zu einer spürbaren Stoffwechselbelastung der Sau führen. Deshalb gilt es darüber nachzudenken, inwieweit sich der Anteil an Eiweiß und Mineralien im Sauenfutter, in Kombination mit speziellen Zusatzstoffen, senken lässt, um den Stoffwechsel der Tiere zu entlasten. Das würde auch der Umwelt gut tun, weil die Nährstoffausscheidung mit Kot und Harn je Produktionseinheit sinkt – ein Punkt, der insbesondere auf flächenarmen Standorten mit hohen Pachtpreisen durchaus wirtschaftliche Vorteile mit sich bringt. Nicht zuletzt könnten durch weniger Eiweiß und Mineralstoffe im Sauenfutter Ressourcen geschont und damit eine nachhaltigere Landwirtschaft betrieben werden.

Material und Methode

In der Sauenanlage in dem Versuchs- und Bildungszentrum (VBZ) Haus Düsse wurde in Zusammenarbeit mit den Firmen HS-Schräder, Ochtrup, und APC-Austria (Agrar Produktion & Consulting), in einem Langzeitversuch, von Juli 2009 bis Januar 2012, der Einfluss eines speziellen Zusatzstoffes untersucht. Der Zusatzstoff bestehend unter anderem aus Tonmineralien, ätherischen Ölen und Spurenelementen. Es wird dem Futter mit 0,2 % beigemischt.

Das vordergründige Ziel besteht darin, durch eine Vergrößerung der Darmoberfläche eine verbesserte Verdaulichkeit von Eiweiß- und Mineralstoffen zu erreichen. Letztendlich würde dies eine Reduzierung des Rohproteingehaltes und des Phosphorgehaltes im Futter erlauben, ohne Leistungseinbußen zu erleiden. Der Nutzen dieser Strategie für die Sauen liegt in einer Stoffwechselentlastung der Ausscheidungsorgane, insbesondere der Leber und der Niere.

Für den Versuchszeitraum wurde die Sauenherde von 250 Tieren in zwei Fütterungsgruppen unterteilt. Maßgebend für die Gruppenzugehörigkeit war die Ohrmarkennummer. Alle Sauen mit einer ungeraden Ohrmarkennummer gehörten zur Versuchsgruppe mit dem speziellen Zusatzstoff APC (APC-Gruppe), alle Sauen mit einer geraden Ohrmarkennummer gehörten zur Vergleichsgruppe (Kontrollgruppe) die ein Standardfutter ohne den Zusatzstoff APC erhielten. Diese Unterteilung gewährleistete eine gleichmäßige Verteilung der Sauen über alle Altersgruppen hinweg.

Gefüttert wurden beide Gruppen jeweils mit einem Futter für tragende und einem für laktierende Sauen, wobei die Inhaltsstoffe der Trage- und Säugefutter hinsichtlich Energie und Rohfaser identisch waren (siehe Tabelle 1). Um Qualitätsunterschiede zwischen den Futtern der Vergleichs- und denen der Versuchsgruppe auszuschließen, wurden alle Futtermittel aus den gleichen Komponentenchargen zusammen gemischt.

Tabelle 1: Futterzusammensetzung und Inhaltsstoffe

		Kontrollgruppe	APC-Gruppe	Kontrollgruppe	APC-Gruppe
		Tragefutter		Säugefutter	
Gerste	%	41,6	35,6	20,0	20,0
Weizen	%	10,5	25,2	25,0	27,0
Mais	%	10,0	10,0	15,0	24,4
Sojaschrot extra HP	%	8,1		21,4	14,1
Weizenkleie	%	16,5	15,0	5,9	2,5
Sojaschalen	%	5,7	6,5	3,9	4,8
Trockenschnitzel	%	4,0	4,5	2,5	2,5
Calciumcarbonat	%	1,4	1,2	1,7	1,1
Lecithin	%			1,6	1,2
MCP	%		0,1	0,5	0,4
Natriumchlorid	%	0,3	0,3	0,6	0,4
Natriumbicarbonat	%	0,3	0,1		
Sojaöl	%			0,4	0,3
Pflanzenfett	%	0,8	0,5	0,7	0,3
Inhaltsstoffe:					
Energie	MJ ME/kg	12,0	12,0	13,4	13,4
Rohprotein	%	14,0	11,0	17,5	15,0
Lysin	%	0,7	0,5	1,0	0,83
Rohfett	%	3,5	3,2	5,53	4,5
Rohfaser	%	7,0	7,0	5,0	5,0
Rohasche	%	5,5	4,8	6,0	4,7
Calcium	%	0,65	0,58	0,85	0,58
Phosphor	%	0,45	0,42	0,55	0,45
Natrium	%	0,20	0,15	0,25	0,15

Im praktischen Ablauf wurden die Futtermischungen als gebröseltes Fertigfutter von der Firma Schröder geliefert. Mit einer Schauer Spotmixanlage konnten die einzelnen Tröge der Abferkelabteile entsprechend der Sauennummern mit der dazugehörigen Mischung befüllt werden. Innerhalb der APC-Gruppe bzw. Kontrollgruppe erhielten jeweils ein Drittel der säugenden Sauen ihr Futter trocken und die anderen flüssig vorgelegt. Trotz der unterschiedlichen Verabreichungsformen als Trocken- oder als Flüssigfutter, erfolgte die Belegung der Buchten nach dem Zufallsprinzip. Damit wurde eine ausgeglichene Verteilung der Sauen auf die Fütterungstechniken erreicht. Im Bereich des Deckzentrums wurden alle Sauen flüssig gefüttert. Pro Futterausdosierventil wurden hier bis zu vier Sauen gefüttert. Die Sauen wurden entsprechend der Ohrmarkennummer in Besamungsstände aufgestellt, deren Ventile zur jeweiligen Futtergruppe zugeordnet waren. Drei Tage nach der Belegung im Deckstall wurden bzw. werden die Sauen in eine dynamische Großgruppe mit 150 Sauen umgestellt. Über drei Abrufstationen der Firma Mannebeck konnten alle Sauen, tierindividuell, mit Kontroll- oder APC-Versuchsfutter gefüttert werden. Zur technischen Umsetzung des Versuchs, waren alle drei Stationen mit zwei Futterdosierern ausgestattet.

Die Jungsauen wurden von einem Jungsauenbetrieb ab 180 Lebendtagen bezogen und mit durchschnittlich 270 Tagen erstmalig belegt. Nach der Belegung erfolgte die Verteilung der Jungsauen, durch das Einziehen der Ohrmarkennummer auf die Kontrollgruppe bzw. APC-Gruppe. Vom Zeitpunkt der Anlieferung in den Quarantäne-Stall bis zum Einstellen in das Abferkelabteil, war eine Einteilung der Sauen in zwei Futtergruppen aus fütterungstechnischen Gründen nicht möglich. Aus diesem Grunde erhielten alle Jungsauen das Kontrollfutter für die laktierenden Sauen. Erst im Abferkelstall wurden die Sauen der Versuchsgruppe auf das Futter, mit dem Zusatzstoff APC umgestellt. Aus diesem Grunde beginnt die Auswertung erst mit dem 2. Wurf.

Neben den im Sauenplaner erfassten Produktions- und Leistungsdaten der Sauen wurden zusätzliche Einzeltierdaten von den Sauen und Ferkeln erhoben. Erfasst wurden Sauengewichte und Rückenspeckmaße der Sauen beim Ein- und Ausstallen der Sauen im Abferkelstall, so wie die Geburts- und Absetzgewichte der Ferkel durch Einzeltierwiegen. Ferner wurden die Futtermittelverbräuche der Sauen erfasst. Die Daten wurden in einer SPSS Datenbank zusammengeführt und ausgewertet.

Ergebnisse

Die in der Tabelle 2 aufgeführten durchschnittlichen Leistungsdaten der Sauen in der Kontroll- und APC-Gruppe beziehen sich nur auf Würfe ab der 2 Wurfnummer. Hier konnten insgesamt 946 Würfe ausgewertet werden.

Aufgrund der Einteilung der Versuchstiere nach gerader oder ungerader Ohrmarkennummer konnte eine vergleichbare Altersstruktur der beiden Sauenversuchsgruppen erlangt werden.

Die meisten der in Tabelle 2 aufgeführten Leistungsparameter sind nicht statistisch abzusichern. Unter den sonst gleichen Haltungsbedingungen, über einen Zeitraum von 2,5 Jahren können mögliche kompensatorische Effekte der APC-Gruppe nahezu ausgeschlossen werden.

Tabelle 2: Gegenüberstellung der Leistungsdaten der Sauen in der Kontroll- und APC-Fütterungsvariante (ab dem 2. Wurf)

		Kontrolle Gruppe	APC Gruppe	Durch schnitt
Anzahl Würfe ausgewertet	n	479	467	946
Wurfzahl der Sau	n	4,65	4,60	4,63
Anzahl leb. geborene Ferkel	n	13,13	13,16	13,14
Anzahl tot geborene Ferkel	n	1,04	0,98	1,01
Anzahl versetzter Ferkel	n	-0,15	-0,25	-0,20
Anzahl abgesetzter Ferkel	n	10,78	10,70	10,74
Säugezeit	Tage	27,13	27,28	27,20
Geburtsgewicht je Ferkel	kg	1,41	1,40	1,41
Absetzgewicht je Ferkel	kg	8,17	8,04	8,10
Verluste	%	16,05	16,45	16,25
Erdrückte	%	6,65	6,25	6,45
Kümmern	%	4,55	4,76	4,65
Substanzverlust der Sau	kg	34,34	37,61	35,96
	%	12,66	13,90	13,27
Futtermittelverbrauch in der Säugezeit	kg	144,61	142,17	143,41
	kg / Tag	5,33	5,21	5,27
Umrauscherquote	%	4,40	3,00	3,70
Güstzeit	Tage	7,00	6,29	6,65
Zwischenwurfzeit	Tage	152,38	151,33	151,86
Würfe pro Sau und Jahr	n	2,40	2,41	2,40
leb. geborene Ferkel je Sau u Jahr	n	31,46	31,73	31,59
abgesetzte Ferkel je Sau u Jahr	n	25,83	25,80	25,82

Signifikante Unterschiede zwischen den Sauen der APC-Gruppe und den Sauen der Kontrollgruppe bestanden in einem um 3,3 kg bzw. 1,2 % höherem Substanzverlust bei den Sauen der APC-Gruppe nach dem Absetzen. Mit 34,34kg bzw. 12,7% bei der Kontrollgruppe und 37,61kg bzw. 13,9% bei der

APC-Gruppe liegen die Substanzverluste in beiden Versuchsgruppen deutlich über der Norm von 8-10 % innerhalb der Säugezeit. Dennoch haben sich die stärkeren Substanzverluste nicht negativ auf die Fruchtbarkeit bzw. die Nutzungsdauer der Sauen der APC-Gruppe ausgewirkt. Dies könnte in dem allgemein guten Konditionszustand der Sauen begründet sein. Die tendenziell niedrigere Umrauschquote der APC-Gruppe von 3% gegenüber einer Umrauschquote von 4,4% bei der Kontrollgruppe verstärkt diesen Eindruck.

Alle säugenden Sauen erhielten Trocken- bzw. Flüssigfutter, wie bereits im Bericht erwähnt über eine Spotmixelanlage der Firma Schauer, nach Futterkurve zugeteilt. Mit dieser Anlage wird das Futter für die Sauen einzeln über einen Chargenmischer trocken angemischt. Beim Ausdosieren des Futters in den Einzeltrug besteht die Möglichkeit dem Futter Wasser beizumengen. Damit war es möglich die Sauen in einzelnen, dafür ausgerüsteten Abferkelbuchten nass und in anderen Abferkelbuchten trocken zu füttern. Die 22 Abferkelbuchten, in denen trocken gefütterten wurde, befanden sich immer in Abteilen in gleicher Anzahl und in gleichmäßiger Verteilung mit Abferkelbuchten in denen nass gefüttert wurde. In einigen Abteilen wurden die Sauen nur flüssig gefüttert.

Diskussion und Schlussfolgerungen

Eine für den Sauenhalter abschließend entscheidende Frage ist die nach dem wirtschaftlichen Nutzen durch den Einsatz des APC Futters. Dazu wurde in der Tabelle 3. zunächst ein Vergleich der Futterkosten je Sau und Jahr der beiden Versuchsgruppen durchgeführt. Es zeigt sich, dass bei einem fast gleichen Futtermittelverbrauch je Sau und Jahr die Futterkosten bei der APC- Gruppe um 6,46 €/ Sau und Jahr höher ausgefallen sind. Bezogen auf eine nachhaltige Ferkelproduktion ist festzustellen, dass durch den Verzicht von HP- Sojaschrot im Tragendfutter in der APC-Gruppe und eine Reduzierung des HP-Sojaschrotanteils in dem Säugefutter der APC-Gruppe um 7,3 %-Punkte, je Sau und Jahr ca. 90 kg HP- Sojaschrot im Vergleich zur Kontrollgruppe eingespart werden konnten. Das Ergebnis eines Futtermittelvergleichs der im Versuch eingesetzten APC Futter mit den Kontrollfuttern wird somit stark vom jeweiligen Sojaschrotpreis beeinflusst. Aufgrund der aktuell hohen Sojaschrotpreise führt der geringere Rohproteingehalt der im Versuch eingesetzten APC Futter zu einem veränderten Preisgefüge zwischen den Kontrollfuttern und den APC Futtern.

Tabelle 3: Stickstoff- und Phosphorausscheidungen sowie Flächenbedarf in Abhängigkeit von Standard-RP-/P-reduzierter bzw. Stark-RP-/P-reduzierter Fütterungsstrategie bei Sauen mit Ferkeln bis 7,5 kg LM am Beispiel von 100 Sauen

Variante		Kontrollgruppe		APC Gruppe	
RP-/ P Gehalte im Futter					
Im Tragendfutter	g/kg	140	4,5	110	4,2
Im Säugefutter	g/kg	175	5,5	150	4,5
N-/ P Aufnahme / Sau u Jahr	kg	28,76	5,72	23,49	5,02
N-/ P Ausscheidung / Sau u Jahr	g	23,75	4,72	18,49	4,03
P ₂ O ₅ - Ausscheidung / Sau u Jahr	kg	10,81		9,22	
Flächenbedarf für Gülle					
- P ₂ O ₅ - Düngung	ha	12,77		10,79	
- N-Düngung	ha	10,16		7,62	
Kalkulierte Kosten Pachtfläche	€/ ha	750		750	
Kostendifferenz für Flächenbedarf nach P ₂ O ₅	€			- 1487,44	
Kostendifferenz je Sau und Jahr	€			- 14,87	

Ein weiterer Vorteil der APC Fütterung sollte sich in der geringen Nährstoffausscheidung bemerkbar machen. Hier- zu wurde eine Nährstoffbilanzierung vorgenommen. Ziel dieser Berechnung war der

Vergleich, der ausgeschiedenen Nährstoffmengen an Stickstoff und Phosphor, zwischen den beiden Fütterungsversuchsgruppen. Daraus wurde dann die jeweilig benötigte Gülleausbringfläche bezogen auf den Stickstoff- und Phosphoranfall, für einen Bestand von 100 Sauen, errechnet. Es zeigte sich, dass beim Phosphor als entscheidende Größe für den Flächenbedarf die Kontrollgruppe mit 12,75 ha, ca. 2 ha mehr benötigt wurden als die APC-Gruppe, für die 10,80 ha an Gülleausbringfläche ausreichten.

Neben den Vorteilen für den Umweltschutz, der durch die geringere Nährstoffausscheidung bei vergleichbaren Tierleistungen erzielt wurde, lässt sich auch ein wirtschaftlicher Vorteil für den Sauenhalter durch den Einsatz des APC Futters ermitteln. Besonders an Veredelungsstandorten ist das Angebot an noch freien Flächen zur Gülleausbringung sehr knapp und damit auch entsprechend teuer. Ausgehend von einem Pachtpreis von 750 €/ha, würde eine Verringerung der benötigten Fläche von ca. 2 ha je 100 Sauen somit eine Ersparnis von 1.487,44 €, oder 14,87 €/Sau und Jahr bedeuten. Abzüglich der höheren Futterkosten von 6,46 €/ Sau u Jahr, bleibt ein wirtschaftlicher Vorteil von 8,41 €/Sau und Jahr bei den Sauen der APC-Gruppe bestehen, siehe Tabelle 3.

Literatur

DLG Arbeitskreis Futter und Fütterung (2008): Empfehlungen zur Sauen- und Ferkelfütterung

LWK NRW Dr. Stalljohann, G., u.a. (2012): Rechenmeister für die Schweinefütterung 2012

DLG-Information (1999): Schweinefutter auf der Basis des verdaulichen P. 1/1999

Dr. Stalljohann, G., Schulte-Sutrum, R. (2012): Düsse testet Sauenfutter. Landw.Wochenbl.Westf.-Lippe 35/2012, S. 42-43

Dr. Stalljohann, G., Schulte-Sutrum, R. (2012): APC: Senkt Kosten und Nährstoffausscheidung? Der fortschrittliche Landwirt 24/2012, S. 22-24

Autorenanschrift

Dr. Gerhard Stalljohann
Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen
Nevinghoff 40; D-48147 Münster
Telefon: 0251/2376-860
E-Mail: gerhard.stalljohann@lwk.nrw.de

Reinhard Schulte-Sutrum
Versuchs- und Bildungszentrum Landwirtschaft Haus Düsse
D-59505 Bad Sassendorf
Telefon: 02945/989-161
E-Mail: reinhard.schulte-sutrum@lwk.nrw.de

Acute deoxynivalenol exposure modulates the intestinal transporter trafficking in broiler chickens

Wageha A. Awad^{1,2}, Khaled Ghareeb^{2,3}, Josef Böhm³, Michael Hess¹ and Jürgen Zentek⁴

¹ Clinic for Avian, Reptile and Fish Medicine, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, AT

² Faculty of Veterinary Medicine, South Valley University Qena, EG

³ Institute of Animal Nutrition, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, AT

⁴ Institute of Animal Nutrition, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin, DE

Abstract

Mycotoxins are unavoidable contaminants in foods and feeds and constitute a major health problem. Deoxynivalenol (DON), mainly produced by *Fusarium* fungi, and also commonly called vomitoxin, is a trichothecene mycotoxin. It is a major cereals grain contaminant of public health concern worldwide and causes various toxicological effects. The full effects of *Fusarium* mycotoxins on nutrient absorption are still not known. Therefore, the objectives of present study was to characterize, if the decreased nutrient absorption is due to specific effects on the intestinal transporter trafficking and to explore whether inhibition of the phosphoinositol-3-kinase (PI-3-kinase) affects electrogenic jejunal transport of glucose. At 6 wk old, jejunal mucosa was mounted in the Ussing chambers. The treatments were control, DON (10 mg/L), wortmannin (as specific inhibitor of PI-3-kinase, 1 μ M), and DON+wortmannin (Pre-treatment of the tissues with wortmannin for 15 min and then DON for 45 min). Within 1 h, DON decreased the short-circuit current (Isc) after glucose addition. A similar decline in the Isc after glucose addition was observed following the pre-application of the PI3 kinase inhibitor. The results indicate that DON decreased ($P < 0.05$) the glucose absorption in the absence of wortmannin. However, it had no additional effect on the glucose absorption in the presence of wortmannin. Overall, the suppressing effect of DON on the electrogenic transport of glucose might be due to inhibitory activity of the PI3 kinase pathway.

Introduction

The presence of mycotoxins in poultry feeds is a significant factor for financial losses to animal industries. 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 (Dänicke et al., 2002).

All animal species tested have been shown to be susceptible to DON. However, the degree of susceptibility varies according to the following rank order (from most to least susceptibility): pigs > mice > rats > poultry \approx ruminants (Prelusky et al., 1994). The difference in sensitivity may be explained by differences in absorption, distribution, metabolism, and elimination of DON (Pestka and Smolinski, 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 (Leeson et al., 1995). This induces susceptibility to diseases (Bondy and Pestka, 2000). 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). 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 is reduced by DON. Therefore, the objectives of present study was to characterize, if the decreased nutrient absorption is due to specific effects on the intestinal transporter trafficking and to explore whether inhibition of the PI3 kinase affects electrogenic jejunal transport of glucose.

Materials and methods

Birds and feeding

Two different experiments were done. In both experiment, a total of 20 broiler chickens (males and female) at 6 weeks of age (Cobb Germany Avimex GmbH) were used. The birds were housed on wood shavings and were provided with their diets and water *ad libitum* during both experiments.

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).

Ussing chamber analysis

The electrophysiological measurements for D-glucose in the jejunum after pre-incubation of the tissues with DON, and or wortmannin were performed in Ussing chambers as described before (Awad et al., 2004).

Briefly, the birds were slaughtered at the age of 6 wk. Jejunum was removed within 3 min after slaughter, and surrounding fat and serosa were carefully removed. Approximately 2-cm pieces from middle jejunum were used for mounting in Ussing chambers having an opening area of 1 cm². The tissues were first incubated in Ussing chambers under open-circuit conditions for 15 min and then were short circuited by clamping them to 0 mV (for 15 min).

In the first experiment, the inhibitor of SGLT-1, phlorizin and the inhibitor for GLUT-2 (cytochalasin B) (100 µmol/L, final concentration) was added to the mucosal side 2 min before mucosal glucose addition. Furthermore, DON or the inhibitor wortmannin was added to the mucosal side for 1 hr. In the second experiment, the treatment groups were control, DON, wortmannin (as specific inhibitor of phosphatidylinositol-3-kinase), and DON+ wortmannin (Pre-treatment of the tissues with wortmannin for 15 min and then DON for 45 min).

The tissues were then monitored for 1 hr to note any change in electrophysiological variables induced by the addition of DON or wortmannin. Then, concentrated D-glucose solution was added to the apical side of each chamber to achieve 10-mM final D-glucose concentration. All treatments were given simultaneously on jejunal segments from the same bird.

Electrophysiological variables, including short-circuit current (Isc), tissue conductivity (Gt), and transmural potential difference (DP), of the jejunal epithelium were noted throughout the experiment.

Data and statistical analysis

Statistical program SPSS (version 17; SPSS GmbH, SPSS Inc., Munich, Germany) was used for data analysis. The Kolmogorov Smirnov test was used to test the normal distribution of the data. 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

Addition of D-glucose to the luminal side of the isolated mucosa of the jejunum, in both experiment, increased ($P < 0.05$) the short circuit-current (Isc), reflecting a higher net flux of sodium from the mucosal to the serosal side compared to basal conditions. The Isc was not increased in jejunum (Table 1, 3) by the addition of glucose after pre-incubation of tissues with DON or wortmannin.

In the first experiment, the contribution of SGLT-1 and GLUT-2 to total glucose uptake was estimated by inhibiting SGLT-1 with phlorizin and GLUT-2 with cytochlasin B. It was found that in the presence of phlorizin, glucose transport was reduced as was indicated by the decreasing of Isc response after glucose addition. However, in the presence of cytochalsin the glucose transport remained unaltered (Table 1).

Deoxynivalenol decreased ($P < 0.05$) the glucose transport in the absence of phlorizin. However, it had no additional effect on the glucose transport in the presence of phlorizin (Table 1).

In both experiment, the results indicate that DON decreased ($P < 0.05$) the glucose absorption in the absence of wortmannin. However, it had no additional effect on the glucose absorption in the presence of wortmannin (Table 3). However, the tissue conductivity was not significantly affected by the presence of DON or wortmannin.

Table 1: Short-circuit current (Isc) in isolated mucosa of broilers after D-glucose addition

Treatments/ parameters	Control (n = 18)	DON (n = 12)	DON-Phlorizin (n = 10)	Phlorizin (n = 12)	Wortmannin (n = 15)	Cytochlasin B (n = 14)	P
Basal Isc ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	3.4 ± 0.30	4.0 ± 0.37	5.0 ± 0.63	4.0 ± 0.26	4.14 ± 0.40	5.0 ± 0.56	0.134
Isc after glucose	6.6 ^a ± 0.48	3.17 ^b ± 0.40	3.20 ^b ± 0.49	2.83 ^b ± 0.17	3.14 ^b ± 0.14	7.27 ^a ± 0.90	0.001

Within the same row, means with different letters are significantly different (ANOVA; Duncan's test, $P < 0.05$). Results are reported as means ± SEM, n= number of experiments (two replicates /bird).

Table 2: Tissue conductivity (Gt) across the isolated mucosa of broilers after glucose addition

Treatments/ parameters	Control (n = 18)	DON (n = 12)	DON-Phlorizin (n = 10)	Phlorizin (n = 12)	Wortmannin (n = 15)	Cytochlasin B (n = 14)	P
Basal Gt (mS/cm ²)	1.47 ± 0.18	1.34 ± 0.06	1.39 ± 0.17	1.34 ± 0.06	1.39 ± 0.11	1.45 ± 0.15	0.988
Gt after glucose	1.31 ± 0.03	1.22 ± 0.50	1.11 ± 0.06	1.27 ± 0.06	1.33 ± 0.08	1.43 ± 0.15	0.401

(ANOVA; Duncan's test). Results are reported as means ± SEM, n= number of experiments (two replicates /bird).

Table 3: The electrophysiological parameters in isolated jejunal mucosa of broilers after addition of glucose

Treatment/ parameters	Control (n = 10)	DON (n = 10)	DON- Wortmannin (n = 10)	Wortmannin (n = 10)	P
Basal Isc (µA/cm ²)	3.0 ± 0.6	4.8 ± 0.8	3.8 ± 0.5	3.4 ± 0.4	0.169
Isc after glucose addition	6.0 ^a ± 0.8	3.9 ^b ± 0.7	4.0 ^b ± 0.6	4.1 ^b ± 0.3	0.056
Basal Gt (mS/cm ²)	2.0 ^a ± 0.2	2.0 ^a ± 0.3	1.3 ^b ± 0.1	1.2 ^b ± 0.1	0.001
Gt after glucose	1.7 ^a ± 0.1	1.6 ^a ± 0.2	1.2 ^b ± 0.1	1.1 ^b ± 0.1	0.001

^{ab} means values with different superscripts within lines differ significantly

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).

Na⁺-dependant glucose absorption was measured by the rise in short circuit-current (Isc) in Ussing chambers after addition of glucose. This change in Isc 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. In our previous studies (Awad et al., 2005b, 2007), it was shown that DON has negative effects on the active transport of some nutrients. The mode of toxic action of DON is the inhibition of protein synthesis, but the impaired protein synthesis could be relevant in chronic exposure, while decreased nutrient availability at the cellular level

or the hypothetical effects on transporters trafficking might be of biological significance for the acute reaction of the gut epithelium. Therefore, our objective was to get more insight into the possible mechanism for the effect of DON on glucose transport in the presence or absence of wortmannin (as specific inhibitor of phosphatidylinositol-3-kinase, PI-3-kinase).

In the first experiment, the transport of glucose was strongly inhibited by phlorizin. For the DON-treated tissues, SGLT-1 activity was similar to phlorizin. In this experiment we have used a higher glucose concentration to promote rapid insertion of GLUT-2 into the apical membrane. Regulation of the GLUT2-facilitated component of absorption involves a protein kinase C (PKC) -dependent pathway, which is activated by glucose transport through the Na⁺-glucose SGLT-1 (Affleck et al., 2003; Kellett and Helliwell, 2000). Inhibition of SGLT-1 with phlorizin diminishes the level of GLUT-2 at the brush-border membrane and so inhibits the facilitated as well as the active component. SGLT-1 therefore exerts an important control function in addition to its established functions as scavenger and transporter (Kellett, 2001). Regulation also involves phosphatidylinositol (PI) 3-kinase, extracellular signal-regulated kinase (ERK) and p38 signalling pathways (Helliwell et al., 2003).

The results from the present studies clearly showed that the electrogenic transport of glucose was reduced by DON, indicating that the selective effects of DON on intestinal transporters were mimicked by phlorizin and wortmannin. The present observations suggest that the rapid effect for acute DON exposure on the electrogenic transport of glucose can be explained by the negative effects of DON on PI 3 kinase. Those studies suggest some explanations of how the *Fusarium* mycotoxin DON impairs absorptive functions in chickens, suggesting that the various effects of DON on nutrient transport is due to the ability of the tricothecene to inhibit protein synthesis (Rotter et al., 1996).

In conclusion, all these data suggest that the various acute effects of DON on nutrient absorption can be mainly due to the ability of deoxynivalenol to interfere with PI 3 kinase pathway, which is required to maintain intestinal transport function. Furthermore, the similarity between the effects of phlorizin and DON on glucose transport indicated the ability of DON to reduce the Na⁺-D-glucose cotransport and subsequently decreased nutrient and energy availability at the cellular level.

References

- Affleck, J. A., P. A. Helliwell, G. L. Kellett. 2003. Immunocytochemical detection of GLUT2 at the rat intestinal brush-border membrane. *J. Histochem. Cytochem.* 51: 1567-1574.
- 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 and L-proline on electrophysiological parameters in 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.
- Bondy, G. S., Pestka, J. J. 2000. Immunomodulation by fungal toxins. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.* 3, 109–143.
- Bouhet, S. and 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.
- Dänicke, S., K. H. Ueberschar, 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.

- Feinberg, B., C. S. Mclaughlin. 1989. Biochemical mechanism of action of trichothecene mycotoxins. In: Trichothecene mycotoxicosis: pathophysiologic effects. Beasley V. R. (ed). CRC Press, Boca Raton, Florida, Volume I. pp. 27-35.
- Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (Gfe). 1999. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Legehennen u. Masthühnern (Broiler). DLG Verlag, Frankfurt.
- Helliwell, P. A., M. G. Rumsby, G. L. Kellett. 2003. Intestinal sugar absorption is regulated by phosphorylation and turnover of protein kinase C betaII mediated by phosphatidylinositol 3-kinase and mammalian target of rapamycin-dependent pathways. *J. Biol. Chem.* 278: 28644-28650.
- Kellett, G. L. 2001. The facilitated component of intestinal glucose absorption. *J. Physiol.* 531: 585-595.
- Kellett, G. L., P. A. Helliwell. 2000. The diffusive component of intestinal glucose absorption is mediated by the glucose-induced recruitment of GLUT2 to the brush-border membrane. *Biochem. J.* 350: 155.
- Leeson, S., G. Diaz J. D. Summers. 1995. Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University Books. Guelph, Canada.
- National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry, 8th ed. Washington, DC: National Academy Press.
- Oswald, I. P. 2006. Role of intestinal epithelial cells in the innate immune defence of the pig intestine. *Vet Res* 37: 359-368.
- Pestka, J. J., Smolinski, A. T. 2005. Deoxynivalenol: Toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Environ. Health B-Crit. Rev.* 8, 39-69.
- Prelusky, D. B., Gerdes, R. G., Underhill, K. L., Rotter, B. A., Jui, P. Y., Trenholm, H. L. 1994. Effects of low level dietary deoxynivalenol on the hematological and clinical parameters of the pig. *Nat. Toxins* 2, 97-104.
- 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
E-mail: wageha.awad@vetmeduni.ac.at

IPUS Migulatoren fördern eine nachhaltige Kreislaufwirtschaft

IPUS

Führend in Migulator Technologie

Migulatoren sind mineralische Bioregulatoren, welche die Wirksamkeit vieler Maßnahmen entlang der gesamten Kreislaufwirtschaft – Boden & Pflanze, Nutztier, Stallhygiene, Gülle – steigern.

In Zusammenarbeit mit Forschungseinrichtungen wie der BOKU Wien untersucht IPUS die Wirkungsweise der Migulatoren in verschiedenen Anwendungsbereichen.

IPUSagro - Boden & Pflanze



MIGULATOREN für eine wirkungsvolle Nährstoffnutzung zur Boden- und Pflanzenverbesserung.

IPUSagro - Nutztier



MIGULATOREN für eine wirkungsvolle Verdauung und mehr Vitalität.

IPUSagro - Stallhygiene



MIGULATOREN für eine wirkungsvolle Nutztierhygiene und ein verbessertes Stallklima.

IPUSagro - Gülle & Kompostierung



MIGULATOREN für die wirkungsvolle mikrobielle Gülleverarbeitung und -veredelung sowie zur Kompostierung.

IPUSagro Produktgruppen entlang des landwirtschaftlichen Kreislaufs:

- IPUSagro B 100 Bodenverbesserer
- IPUSagro Quattro P 400 Mineralischer Blattdünger
- IPUSagro F Futtermittelzusatz
- IPUSagro H 800 Stalleinstreu
- IPUSagro M 220 Euterpaste
- IPUSagro L 900 Gülleveredelung

gelistet
InfoXgen
für Biobetriebe geeignet

Effects of deoxynivalenol and a microbial feed additive on performance traits and pH of the gastrointestinal tract of broiler chickens

Khaled Ghareeb^{1,3}, Wageha A. Awad^{2,3} and Josef Böhm¹

¹ Institute of Animal Nutrition and Functional plant compounds, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, AT

² Clinic for Avian, Reptile and Fish Medicine, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, AT

³ Faculty of Veterinary Medicine, South Valley University Qena, EG

Abstract

Deoxynivalenol (DON) is a significant contaminant of chicken feed world wide. It was shown that DON affected the intestinal digestive and absorptive functions in poultry. In the present study, the pH of digesta at different parts of gastrointestinal tract of broilers fed deoxynivalenol and a microbial feed additive was investigated. A total of 40 broiler chicks were weighed and randomly divided to 4 groups (10 birds/group); 1) control group, birds were fed a control basal diet, 2) DON group, birds were fed basal diet contaminated with 10 mg DON/kg diet, 3) DON+Mycofix group, birds were fed basal diet contaminated with 10 mg DON/kg diet and supplemented with Mycofix Select (2.5 kg/tonne of diet, Biomin GmbH, Herzogenburg, Austria), 4) Mycofix group, birds were fed basal diet supplemented with Mycofix Select (2.5 kg/tonne of diet). The results indicated that DON feeding slightly decreased the birds' body weight at 2, 3, 4 and 5 weeks of age. Body weight gain was also significantly decreased at week 5 for DON group. Feed intake was slightly decreased by DON feeding at week 3 and week 4. Addition of Mycofix Select to broiler diet resulted in an increased birds' body weight at 2, 3 and 4 weeks of age. Our results show that feeding DON did not alter the pH along the whole gut. However, Mycofix Select decreased the pH in all parts of gut with the exception of caecum where the pH was increased indicating a change in the microbiome and resorption activation. In conclusion, DON decreased the body weight gain of broilers at marketing age as results of its chronic effects along the 5 weeks of dietary exposure. Mycofix Select as a microbial feed additive was beneficial for reducing the effects of DON on performance and changed the pH of whole gut, suggesting a significant change in the microbial ecology of intestines.

Introduction

Deoxynivalenol (DON) is produced by strains of *Fusarium graminearum* and *F. Culmorum* and it is one of the most common contaminants of wheat, maize, and barley (Rotter et al. 1996). It is a very stable compound that does not degrade at high temperatures (Scott, 1991). Environmental conditions that favour DON production in the field are low temperature and high humidity.

Literatures on the effect of DON on performance of broilers are variable. It was, therefore, not possible to find the dose–response relationship between depression of growth in relation to dietary DON concentrations for broilers in a similar way as for pigs. Many studies indicated that concentrations of dietary DON below 15 mg/kg had no adverse effect on body-weight gain, feed consumption or feed:gain of broilers (Bergsjø and Kaldhusdal, 1994, Kubena et al. 1997). Other studies showed that a reduction in body weight, feed intake and body weight gain of broilers fed diets artificially contami-

nated with 10 mg DON/kg diets (Ghareeb et al. 2012, Awad et al. 2012) with a contribution of low protein content of feed.

The gastrointestinal tract (GIT) is considered as important barrier against toxins and contaminants (Bouhet et al., 2004) and it has physical, chemical, immunological and microbiological characteristics. It was shown that the intestinal functions are significantly affected by DON and a microbial feed additive in chickens (Awad et al., 2004). However, the authors did not estimate the pH of the gastrointestinal tract.

Therefore, the present experiment was carried out to investigate the possible effects of chronic DON oral exposure in broilers on growth performance and pH of the gastrointestinal tract.

Materials and methods

Birds and diets

A control group were fed with DON lower than detection level (ppb level) feed ad libitum and no Mycofix Select (MS), the second got a diet with 10 ppm DON in the compounded feed (artificially contaminated wheat), the third got a diet with 10 ppm DON plus 2.5 kg MS/ tonne diet, and the fourth group got Mycofix Select (MS) in a control feed (2.5 kg/ton) without DON. The birds were fed from one day old until slaughtering weight (5 wk) for investigating the chronic effects of DON and possible counteracting effects of MS.

Growth performance parameters

Body weight, body weight gain, feed consumption, and feed conversion were measured weekly.

Gastrointestinal pH

The digesta was collected from the gizzard, start of jejunum, duodenum, caecum and ileum. Then the digesta samples were diluted with distilled water (1:10) and pH was determined with an electronic pH meter (Beckman Coulter, Inc, Fullerton, CA, USA).

Data and statistical analysis

Statistical program SPSS (version 17; SPSS GmbH, SPSS Inc., Munich, Germany) was used for data analysis. The Kolmogorov Smirnov test was used to test the normal distribution of the data. 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 and discussion

Performance traits did not show any significant differences between dietary groups at the first week of feeding trial (Table 1). However, at 2, 3 and 4 wk, supplementation of diet with Mycofix resulted in higher body weight (BW) compared with birds fed basal diet contaminated with DON. As well as body weight gain (BWG) was significantly higher for Mycofix group at wk 3 and 4 compared with birds fed diet contaminated with DON. Moreover, DON decreased the body weight, BW gain at 2, 3 4, and 5 wk as well as the daily gain was decreased but the differences did not reach to significance. Feed intake was numerically decreased at 4 and 5 wk. Similarly, a reduction in body weight, feed intake and body weight gain of broilers fed diets artificially contaminated with 10 mg DON/kg diets was observed in other recent studies (Ghareeb et al. 2012, Awad et al. 2012) with a contribution of low protein content of feed. This could indicate that DON itself resulted in an adverse effect on performance. Furthermore,

feed conversion rate in DON group was increased with increasing the age of birds. In contrast, feed conversion rate was decreased for MS group with increasing the age however, at wk 5, there was no difference.

DON did not alter the pH along the whole gut (Table 2). However, MS decreased the pH of in all parts of gut with the exception of caecum where the pH was increased. The pH values along the small and large intestine are significant and varied after MS addition. A change in the microbiome and resorption activation is indicated. In conclusion, the results suggested that DON had no effect on bacterial fermentation but rather describes a highly adaptable steady-state system as a consequence of interactions of host, bacteria and diet.

Table 1: Effects of DON and a microbial feed additive on broiler performance

Performance traits	Control group	DON group	DON + Mycofix	Mycofix group
WK 1:				
Body weight (g)	179±4	171±6	184±8	181±7
Body weight gain (g)	136±4	128±6	141±7	139±7
Feed intake (g/bird)	182	187	171	192
Feed conversion rate	1.3	1.5	1.3	1.4
WK 2:				
Body weight (g)	445 ^{ab} ±14	409 ^b ±19	434 ^{ab} ±18	462 ^a ±12
Body weight gain (g)	265 ^{ab} ±15	238 ^b ±14	250 ^{ab} ±14	281 ^a ±11
Feed intake (g/bird)	423	431	414	430
Feed conversion rate	1.6	1.8	1.6	1.5
WK 3:				
Body weight (g)	810 ^{ab} ±49	746 ^b ±53	840 ^{ab} ±50	925 ^a ±27
Body weight gain (g)	365 ^{ab} ±45	336 ^b ±44	406 ^{ab} ±39	464 ^a ±21
Feed intake (g/bird)	601	701	666	633
Feed conversion rate	1.6	2.1	1.6	1.4
WK 4:				
Body weight (g)	1330 ^{ab} ±75	1302 ^b ±56	1456 ^{ab} ±47	1472 ^a ±34
Body weight gain (g)	521 ^b ±32	557 ^b ±42	616 ^a ±37	547 ^{ab} ±13
Feed intake (g/bird)	839	676	813	819
Feed conversion rate	1.6	2.1	1.3	1.5
WK 5:				
Body weight (g)	1851±109	1748±68	1798±58	1820±67
Body weight gain (g)	521 ^a ±45	446 ^b ±36	342 ^b ±35	348 ^b ±33
Feed intake (g/bird)	792	781	676	671
Feed conversion rate	1.5	1.8	1.9	1.9

^{a,b} Means within the same row with different superscripts are significantly different (ANOVA followed by Duncan test; n = 10/treatment)

Table 2: The pH in different segments of the gastrointestinal tract (GIT) of broiler chickens

Segment	Control group	DON group	DON+Mycofix	Mycofix group
Gizzard	4.04 ^a ±0.17	4.08 ^a ±0.16	3.55 ^b ±0.11	3.96 ^a ±0.14
Start of jejunum	6.42±0.10	6.39±0.09	6.21±0.05	6.32±0.20
End of jejunum	8.54 ^a ±0.05	8.32 ^{ab} ±0.15	7.96 ^b ±0.09	8.11 ^{ab} ±0.20
Ileum	8.62 ^a ±0.12	8.61 ^a ±0.08	8.26 ^a ±0.08	7.95 ^b ±0.40
Caecum	6.73 ^{ab} ±0.32	6.54 ^b ±0.34	7.09 ^a ±0.25	7.23 ^a ±0.13
Colon	7.84 ^a ±0.27	7.39 ^a ±0.48	6.51 ^b ±0.45	7.11 ^b ±0.53

^{a,b} Means within the same row with different superscripts are significantly different (ANOVA followed by Duncan test; n = 10/treatment)

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.
- Bergsjø B and M Kaldhusdal. 1994. No association found between the ascites syndrome in broilers and feeding of oats contaminated with deoxynivalenol up to thirty-five days of age. *Poult. Sci.* 73: 1758–1762.
- Bouhet, S.; Hourcade, E.; Loiseau, N.; Fikry, A.; Martinez, S.; Roselli, M.; Galtier, P.; Mengheri, E.; and I.P. Oswald. 2004. The mycotoxin fumonisin B1 alters the proliferation and the barrier function of porcine intestinal epithelial cells. *Toxicol. Sci.* 77: 165-171.
- Ghareeb, K.; Awad, W. A.; J. Böhm. 2012. Ameliorative effect of a microbial feed additive on infectious bronchitis virus antibody titer and stress index in broiler chicks fed deoxynivalenol. *Poult. Sci.* 91: 800-807.
- Kubena LF, Edrington TS, Harvey RB, Buckley SA, Phillips TD, Rottinghaus GE and HH Casper. 1997. Individual and combined effects of fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. *Poult. Sci.* 76: 1239–1247.
- Rotter BA, Prelusky DB and JJ Pestka. 1996. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Heal.* 48: 1–34.
- Scott PM (1991) Possibility of reduction or elimination of mycotoxins present in cereal grains. In *Cereal Grain Mycotoxin, Fungi and Quality in Drying and Storage*, pp. 529–572 [J Chelkowski, editor]. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.

Corresponding author

Dr. Khaled Ghareeb
University of Veterinary Medicine Vienna (Vetmeduni)
Department for Farm Animals and Veterinary Public Health
Institute of Animal Nutrition and Functional plant compounds
Veterinärplatz 1; A-1210 Vienna
E-mail: khaled.ghareeb@vetmeduni.ac.at

Effect of feeding mycotoxin-contaminated grain on the growth properties of model animals (laboratory rats)

**Richard Krobot, Kateřina Lukešová, Martina Fröhdeová,
Veronika Mlejnková and Ladislav Zeman**

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Mendel University in Brno, CZ

Introduction

The experiment was the testing of the impact of deoxynivalenol (DON) in combination with zearalenone (ZEA) fungal diseases of wheat and additives of vitamins, commercial adsorbent – glucomannan from the rest of the yeast cell, activated charcoal or algae *Chlorella vulgaris* increases in feed and feed conversion.

In our experiment were 56 male rats *Wistar: Han* – SPF quality (BioTest Konárovice (CZ)), who were divided into 7 groups. It was created control feed mixture (KS 1), which contained a concentration of 214DON $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 27 ZEA $\mu\text{g}/\text{kg}$. It was created 6 feed mixtures with a high content of DON 831 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and ZEA 460 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (KS 2 - KS 7) these compounds were containing vitamin premix, and adding the adsorbent – glucomanna at a dose of 3g/kg, Charcoal at a dose of 3g/kg and *Chlorella vulgaris* at a dose of 3g/kg. The experimental period lasted 35 days, during which time the animals were fed daily ad libitum and 1 weekly weighted. After the experiment data were processed in Statistica 10.0 and MS Excel.

It was found that the inclusion of mycotoxin-contaminated wheat to feed mixture (KS - 2,3,4,5,7) significantly decreased ($P < 0.05$) weight gain compared with the control group (KS 1: 205.14 g μ) and that charcoal in combination with higher levels of vitamin premix (KS 6: 179.69 g μ) can reduce harmful effects on additions limit.

Materials and methods

The experiment was performed in an experimental device of the Institute of Animal Nutrition and Forage AF Mendel in Brno (in accordance with the Law on the protection of animals against cruelty No. 246/1992 Coll.)

In the laboratory were monitored climatic conditions, which are limited primarily temperature, which was measured "data logger with 3120" and was maintained between $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Furthermore, the same device was monitored and constant humidity maintained at 60% of the surface conditioning agent. Photoperiod was controlled artificially according to the scheme 12h day and 12h night to a maximum intensity of 200 lx and chemical conditions was observed in the stable CO₂ content of air - max 0.25% max 0.0025% NH₃.

As an experimental model for this experiment were used growing male rats outbred version of *Wistar:Han* from accredited device BioTest Konárovice (CZ). Animals were included in the experiment at the age of 28 days and the groups were put together with the standard requiring a maximum difference in weight between the experimental groups 5g. Experimental observation was divided into five weeks. Rats were bred for 7 groups in plastic cages. for clear observation of the individual color-coded. Each group included eight males.

Total was created seven feed mills. The composition of each mixture in Table 1. In the individual mixture KS 2 - KS 7 was added additives namely a higher dose of vitamin premix, commercial adsorbent - containing glucomannans from cell walls of yeast, charcoal and chlorella in the batch table. 2. KS 1 - served as a control and contain a low dose of mycotoxins, the other contained a mixture of mycotoxins from naturally mold wheat, which were established by an accredited laboratory (SEVARON Brno) to content Deoxynivalenon (DON) 2312 mg / kg, zearalenone (ZEA) 1936 mg / kg T-2 toxin, 0 mg / kg and aflatoxin 0 mg / kg. Mycotoxins were determined by ELISA. From these contaminated wheat were mixed mixtures and were laboratory tasted on content of mycotoxins Table 3.

Table 1: Diet composition

Feeding group	KS 1	KS 2	KS 3	KS 4	KS 5	KS 6	KS 7
Ingredient (%)	Control group	Glucomann	vit. premix	charcoal	chlorella	Charcoal + vit. premix	Chlorella +vit. pre-mix
Wheat	60,00						
Wheat mycotoxin		60,00	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
Corn	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00
Soyabean meal 47,5 %	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Starch	10,84	10,84	10,64	10,837	10,837	10,637	10,637
Lysin 78%	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
MPK macro	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Vitamins	0,20	0,20	0,40	0,20	0,20	0,40	0,40
Adsorbents				0,003	0,003	0,003	0,003
Sunflower oil	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
sum	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Table 2: Amount of added additives

Feeding group	KS 1	KS 2	KS 3	KS 4	KS 5	KS 6	KS 7
Ingredient	Control group	Glucomann	vit. premix	charcoal	chlorella	Charcoal + vit. premix	Chlorella +vit. premix
Vitamin. premix	0	0	1x	0	0	1x	1x
Glucomannan	0	3g/kg	0	0	0	0	0
Charcoal	0	0	0	3g/kg	0	3g/kg	0
Chlorella	0	0	0	0	3g/kg	0	3g/kg

Table 3: Mycotoxin content in individual mixtures

		Deoxynivalenol	Zearalenon
KS 1	µg/kg	214	27
KS 2	µg/kg	831	460
KS 3	µg/kg	831	460
KS 4	µg/kg	831	460
KS 5	µg/kg	831	460
KS 6	µg/kg	831	460
KS 7	µg/kg	831	460

After mixing of feed mixtures, individuals were divided into groups and during the first week received the control mixture to verify uniform growth. From the second week they were already given experimental mixture ad libitum. In the course of the experiment were individually monitored following indicators: net income and feed conversion, weight gain, health status of the animals. The animals were kept and fed daily and weighed every week.

The experiment was terminated after 5 weeks of observation. Termination went last weighing, then suspended using a soporific (chloroform) to exit.

Results and discussion

Goal was to find out the effect of feeding mycotoxin-contaminated grains for health, growth, and functional characteristics of rats. We have proved that feeding mycotoxin contaminated grains can significantly affect weight gain. The following list is compiled charts for better clarity we conducted an experiment.

The groups were fed a daily dose ad libitum feed. The best feed conversion group achieved KS 7 namely 3.89 g feed g gain followed a group of KS 1 3, 91 g feed g gain. Hardest hit group KS 2 namely 4.41 g feed g gain and group KS 4 namely 4.23 g feed g gain Figure 1.

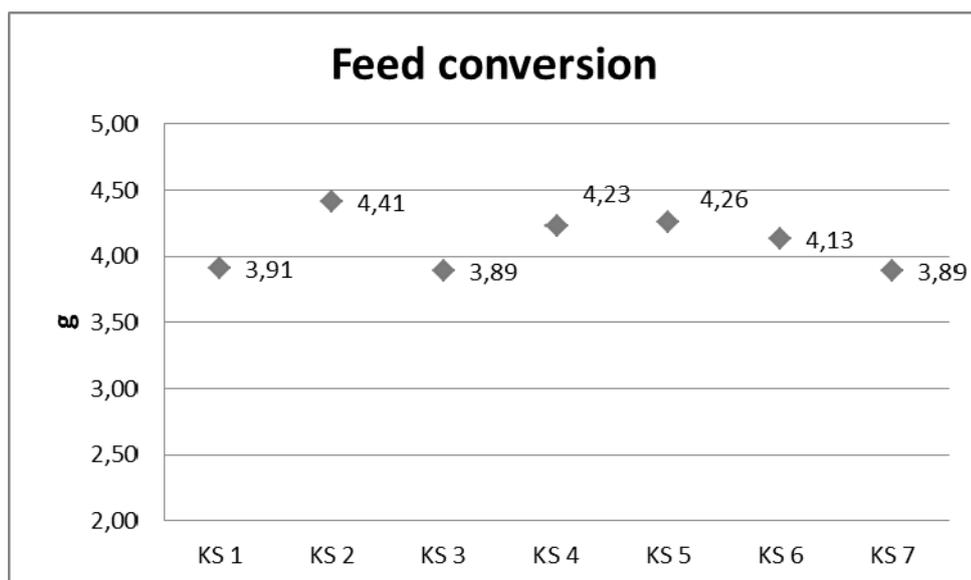


Figure 1: Feed conversion

As for the results of laboratory rats, weight gains, so we were able to verify that the KS 1 (control) was statistically significant ($P < 0.05$) higher than group mycotoxin contaminated. Groups except KS 6, which is statistically inconclusive. This fact may indicate that the content of added substances in sc 6 had an impact on the overall growth groups Figure 2.

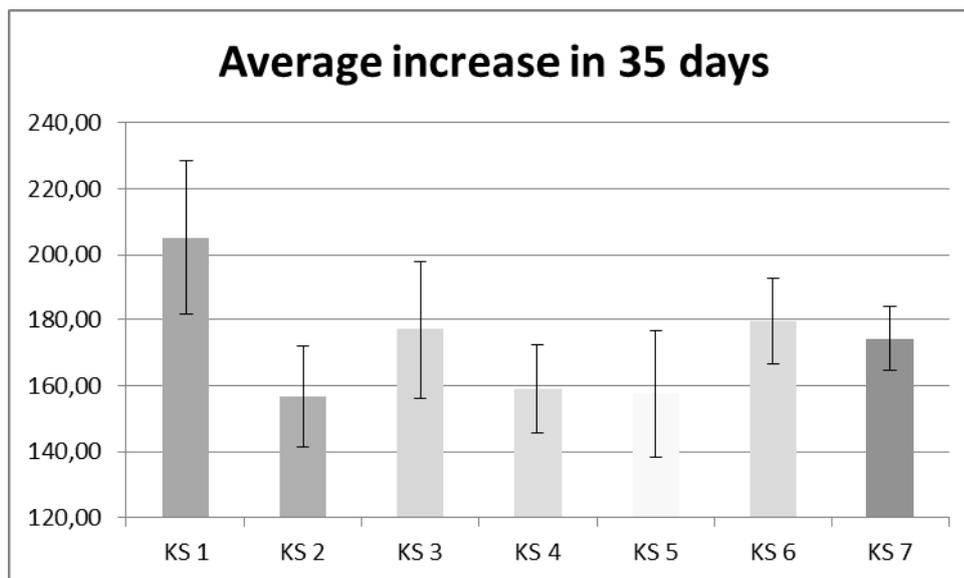


Figure 2: Weight gain

Conclusion

Verify the effect of low levels of naturally generated mycotoxins is a prerequisite for the establishment of high-quality and full rations, which we are able to provide good health of animals and consequently the production of safe food. Another reason, and not completely negligible, it is possible to reduce the cost of on-farm in the event that the low levels of mycotoxins negatively effect.

The aim of this study was to determine the influence of feeding mycotoxin-contaminated grains for health, growth and commercial properties in rats. We found from the results that high levels of mycotoxins significantly affects additions compared to the control group (reduction in growth of 48.32 g on the individual versus the control KS KS 1 and 6) and that the use of adsorbent in our case charcoal (KS 6) may have a positive effect when feeding mycotoxin contaminated feed on the amount of growth. Commercial product did not show such a positive result as we expected.

Acknowledgement

This project was supported by IGA MENDELU BRNO No: IP 8/2012.

Corresponding author

Ing. Richard Krobot
University in Brno
Zemědělská 1; 613 00 Brno
E-mail: xkrobot@mendelu.cz

Exakte Nährstoffanalyse spart Kosten, wir helfen Ihnen dabei!



Precise Nutrition Evaluation

Adisseo NIR Service

Vertrieb in Österreich:

Reisenberger GmbH

A-2380 Perchtoldsdorf
Stuttgarterstraße 2
office@reisenberger.com

Tel.: +43 1 869 92 41-0
Fax: +43 1 869 92 41-21
www.reisenberger.com

Die Verwendung von Nah-Infrarot (NIR) ermöglicht einen besseren Kenntnisstand über die Nährwerte in Ihren Rohstoffen. Adisseo bietet Ihnen ein einzigartiges Service (Precise Nutrition Evaluation): Bestimmung der DAA* sowie der AME** von Futterrohstoffen, ermittelt und validiert durch „in vivo“ Versuche an Lebendgeflügel in der eigenen Versuchsstation - nicht durch Hochrechnung von Tabellenwerten und TTA***. Precise Nutrition Evaluation, basierend auf Daten von „in vivo“ – Versuchen, ist dynamisch und repräsentiert somit immer die aktuelle Qualität der Rohstoffe in einem kontinuierlichen Update Service. Außerdem bietet dieses hochwertige Service die Möglichkeit, den Gehalt an Gesamtphosphor und Phytinphosphor Ihrer Rohstoffe zu messen.

**MIT PRECISE NUTRITION EVALUATION, DEN „IN VIVO“ BASIERENDEN NIR-DATEN,
KÖNNEN MISCHFUTTERHERSTELLER MEHR ALS 6 € JE TONNE FERTIGFUTTER EINSPAREN.**

* DAA - Digestible Amino Acids (verdauliche Aminosäuren)

** AME - Apparent Metabolizable Energy (scheinbare umsetzbare Energie)

*** TAA - Total Amino Acids (gesamte Aminosäuren)

Ogbleich für FB₁ durch eine Vielzahl an Forschungsarbeiten dokumentiert, konnten für Fumonisin-Metabolite bislang unzureichende Daten bezüglich ihrer Toxizität und Bioverfügbarkeit erhoben werden. Howard et al. (2002) erfassten in einem Mausmodell die Toxizität einiger Fumonisin-Derivate anhand deren hepatotoxischen Eigenschaften. Voss et al. (1998) konnten in Ratten anhand der Analyse von Nierenproben Daten erheben, die für eine geringere nephrotoxische Wirkung von HFB₁ im Vergleich zu FB₁ sprechen.

Es liegen in der Literatur bislang jedoch keine Ergebnisse vor, welche die Toxizität von FB₁-Metaboliten anhand des Sa/So-Verhältnisses im Urin erheben. Diese Probenmatrix bietet den Vorteil einer nicht invasiven Probenahme. Darüber hinaus gewinnt Urin zunehmend an Bedeutung für den Nachweis verschiedener Mykotoxin-Biomarker (Turner et al., 2012; Song et al., 2013). Das langfristige Ziel unserer Forschungsarbeiten ist es daher, die Toxizität von Fumonisin-Metaboliten anhand des Sa/So-Verhältnisses im Urin von Tieren zu evaluieren.

In einem ersten Versuch soll die Toxizität des Fumonisin-Metaboliten HFB₁ in Ratten anhand des Sa/So-Verhältnisses in unterschiedlichen biologischen Probenmatrices bestimmt und mit jener von FB₁ in Beziehung gesetzt werden. Gleichsam sollte mit diesem Versuch ein Tiermodell entwickelt werden, das in Zukunft die Evaluierung der Toxizität weiterer Fumonisin-Derivate ermöglicht.

Material und Methoden

Herstellung von FB₁ und HFB₁

FB₁ wurde aus verschimmeltem Mais isoliert. Dazu wurde ein *Fusarium verticillioides* Stamm auf Maisgrieß inokuliert und das Toxin nach 4 Wochen extrahiert (Blum, 2011). Der Rohextrakt wurde mittels Ionenaustausch, Kieselgel-, und Umkehrphasenchromatographie weiter aufgereinigt. HFB₁ wurde durch vollständigen Umsatz von FB₁ mit dem Enzym FumD, einer Carboxylesterase, hergestellt und mittels präparativer HPLC aufgereinigt (Schöner et al., 2011).

Herstellung der Versuchsdäten

Mehlförmiges Standardfutter für Ratten (Ssniff R/M-H[®]) wurde mit Wasser, das die entsprechenden Konzentrationen an FB₁ oder HFB₁ enthielt, im Verhältnis 1,25:1 versetzt und homogenisiert. Nach Zerteilung der Futtermasse in ca. 3x1 cm große Stücke wurden selbige für 2 Tage bei 40 °C getrocknet. Das Futter für die Tiere der Kontrollgruppe wurde auf dieselbe Weise, jedoch ohne Zugabe von Fumonisin, hergestellt.

Die Endkonzentrationen an FB₁ und HFB₁ sowie deren homogene Verteilung wurden vor Verabreichung des Futters durch LC-MS/MS-Messungen überprüft. Die speziegerechte Nährstoffzusammensetzung und der adäquate Trockensubstanzgehalt wurden durch eine Weender Futtermittelanalyse bestätigt. Die Versuchsdäten wurden bis zur Verfütterung bei 4 °C gelagert.

Studiendesign

Zur Anwendung kam ein randomisiertes Blockdesign. 20 männliche Sprague Dawley Ratten wurden anhand ihres Gewichtes einer der folgenden 5 Gruppen (n=4) zugeteilt: Negativkontrolle, FB₁ niedrig (13,9 µmol FB₁/kg Futter), FB₁ hoch (69,3 µmol FB₁/kg), HFB₁ niedrig (13,9 µmol HFB₁/kg) und HFB₁ hoch (69,3 µmol HFB₁/kg). Die Tiere erhielten über einen Zeitraum von 4 Wochen die Versuchsdäten und Wasser *ad libitum*. An den Versuchstagen 7, 14, 21 und 28 wurden die Tiere einzeln in Stoffwechsellkäfigen gehalten, um Urin und Kot zu sammeln. An diesen Tagen wurde den Tieren das Futter entzogen, um eine Kontamination der Exkrete mit Fumonisin-haltigem Futter zu vermeiden. Am Tag 28 wurden die Tiere anästhesiert, euthanasiert und Serum- und Gewebeproben (Niere, Leber, Lunge) entnommen.

Aufarbeitung und Analyse der Proben

Urinproben: Aliquote der Urinproben wurden zentrifugiert und die präzipitierten Zellen anschließend in drei Schritten mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, zur Trockene abgedampft, in Methanol/Wasser (20/80, v/v) aufgenommen und in HPLC Vials überführt.

Organ- und Serumproben: Die Gewebeproben wurden in Phosphatpuffer aufgeschlämmt und mit einem Ultra-Turrax homogenisiert. Zur Proteinfällung wurden Aliquote der Gewebehomogenisate und Serumproben mit Methanol/Acetonitril (50/50, v/v) versetzt, geschüttelt und zentrifugiert. Anschließend wurden die Pellets mit Methanol/Wasser (80/20, v/v) extrahiert. Die vereinigten Überstände wurden zur Trockene abgedampft, in Methanol/Wasser (20/80, v/v) aufgenommen und in HPLC Vials transferiert.

Analyse der Proben: Die Konzentration der Sphingoid-Basen in den Proben wurde mittels LC-MS/MS, bestehend aus einer HPLC (1100 Serie, Agilent Technologies) und einem 4000 QTrap Massenspektrometer (AB Sciex), bestimmt. Die Analyten wurden auf einer C₁₈ Gemini Säule (Phenomenex) getrennt. Die anschließende Detektion erfolgte nach positiver Elektrospray-Ionisierung im Selective Reaction Monitoring Mode.

Auswertung der Daten und statistische Analyse

Die Messdaten wurden mit Analyst[®] Version 1.5.2 (AB Sciex) ausgewertet. Die Proben wurden anhand externer Standards quantifiziert. Die statistische Auswertung der Sa/So-Verhältnisse und der Gewichtsdaten erfolgte mittels univarianter Varianzanalyse (ANOVA) und Bonferroni Post-Hoc-Test (SPSS Statistics[®] 19, IBM).

Ergebnisse

Klinische Erscheinungen

Über die gesamte Versuchsdauer hinweg konnten keine klinischen Symptome bei den Tieren beobachtet werden. Die Gewichtszunahmen waren dem Stamm und dem Alter der Tiere entsprechend, wobei keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen festgestellt wurden.

Sa/So-Verhältnis in den Urinproben

Die am Tag 28 durchschnittlich in den Urinproben erhobenen Sphinganin- und Sphingosinkonzentrationen, sowie das aus diesen Werten errechnete Sa/So-Verhältnis, sind in Tabelle 1 für die jeweiligen Versuchsgruppen angeführt. Jene Tiere, die FB₁-kontaminiertes Futter erhielten, wiesen ein deutlich erhöhtes Sa/So-Verhältnis auf. Im Vergleich zur Negativkontrolle und beiden HFB₁-Versuchsgruppen konnten diesbezüglich signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) festgestellt werden. Unabhängig von der Dosierung führte die Verabreichung von HFB₁ zu keiner relevanten Erhöhung des Sa/So-Verhältnisses im Urin.

Sa/So-Verhältnis in den Organ- und Serumproben

Die für Niere, Lunge und Leber ermittelten Sa/So-Verhältnisse sind in Abbildung 2 dargestellt. Die erhöhten Sa/So-Verhältnisse der Urinproben spiegeln sich in den Resultaten der Nierenproben wider. Hierbei erwiesen sich wiederum die Unterschiede zwischen beiden FB₁- und HFB₁-Gruppen, sowie zwischen den FB₁-Gruppen und der Negativkontrolle als statistisch signifikant ($p < 0,01$). Hingegen konnte für keine der Treatmentgruppen eine Erhöhung des Sa/So-Verhältnisses in Lunge, Leber (Abbildung 2) oder Serum (Daten nicht gezeigt) festgestellt werden.

Tabelle 1: Sphinganin- und Sphingosinkonzentration (Mittelwert ± natürliche Standardabweichung) im Urin (d28) der verschiedenen Treatmentgruppen (n=4), sowie deren Verhältnis zueinander (Sa/So-Verhältnis). Sa/So-Verhältnisse, die mit demselben Buchstaben gekennzeichnet sind, weisen keine statistische signifikanten Unterschiede auf ($p < 0,01$; Bonferroni-Test)

Gruppe	Sphinganin (Sa) ± SD (ng/mL)	Sphingosin (So) ± SD (ng/mL)	Sa/So-Verhältnis ± SD
Kontrolle	1,50 ± 1,03	31,87 ± 9,85	0,03 ± 0,03 ^c
FB ₁ niedrig	533,7 ± 259,7	146,1 ± 39,31	3,55 ± 0,84 ^b
FB ₁ hoch	1664 ± 347,9	234,4 ± 50,48	7,14 ± 1,06 ^a
HFB ₁ niedrig	6,64 ± 5,31	40,17 ± 15,56	0,14 ± 0,10 ^c
HFB ₁ hoch	4,86 ± 3,41	98,96 ± 65,58	0,05 ± 0,03 ^c

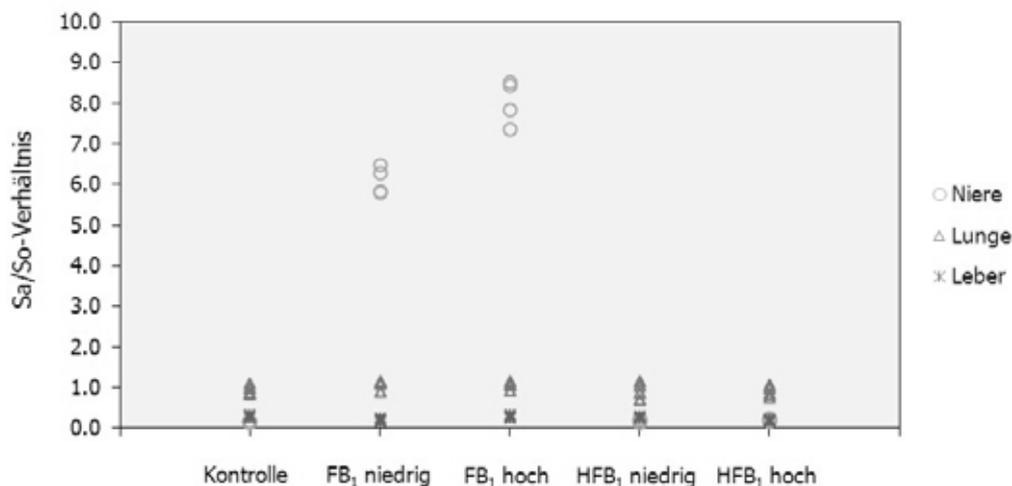


Abbildung 2: Verhältnis der Sphinganin-zu-Sphingosinkonzentration (Sa/So-Verhältnis) in Niere, Lunge und Leber der Einzeltiere (n=4) der verschiedenen Treatmentgruppen

Diskussion

Die Aufnahme von Fumonisinen löst eine Vielzahl gesundheitsschädigender Effekte aus, wobei speziesspezifische Unterschiede hinsichtlich des Ausprägungsgrades und der Organspezifität existieren (Voss et al., 2007). So führt beispielweise die Aufnahme von Fumonisinen in Pferden zur Ausbildung einer Leukoenzephalomalazie, während bei Schweinen das Auftreten von Lungenödem beschrieben wurde (Ross et al., 1992). Die im vorliegenden Versuch erhobenen Daten zeigen, dass FB₁ in Sprague Dawley Ratten eine primär nephrotoxische Wirkung besitzt. Dies stimmt mit Daten aus der Literatur überein, die eine Inhibierung des Sphingolipid-Stoffwechsels in der Niere bei diesem Rattenstamm hervorheben (Riley und Voss, 2006).

Im Gegensatz dazu führte die Gabe von HFB₁ weder in Niere, noch in Urin oder den übrigen untersuchten Matrices (Leber, Lunge und Serum) zu einer Erhöhung des Sa/So-Verhältnisses. Daraus schließen wir, dass HFB₁ keine toxische Wirkung auf den Sphingolipid-Stoffwechsel in Ratten aufweist. Berichte über eine im Vergleich zu FB₁ reduzierte nephrotoxische, neurotoxische und hepatotoxische Wirkung von HFB₁ in Nagern sind aus der Literatur bekannt (Voss et al., 1998; Howard et al., 2002, Voss et al., 2009). Im Gegensatz zu diesen Arbeiten ermöglicht das vorliegende Versuchsdesign, die Toxizität von Fumonisin-Derivaten ohne invasive Probenahme zu eruieren. Darüber hinaus zeigte sich,

dass sowohl die Tierzahl, als auch die Versuchsdauer ausreichend sind, um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu erheben. Die ausstehenden Analysen der übrigen Urinproben (d7, d14, d21) werden Aufschluss darüber geben, ob die Versuchsdauer weiter reduziert werden kann. Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass das angewendete Tiermodell sehr gut geeignet ist, um in Zukunft die Toxizität weiterer Fumonisin-Metabolite zu bestimmen.

Schlussfolgerung

Unsere Daten belegen, dass der Fumonisin-Metabolit HFB₁ im Hinblick auf den Sphingolipid-Stoffwechsel in Ratten keine toxische Wirkung aufweist. Diesbezüglich können Nahrungs- und Futtermittelverarbeitungsprozesse, die eine Hydrolyse von FB₁ bewirken, als adäquate Strategie zur Minimierung der Fumonisin-Exposition angesehen werden. Die erstmalige Bestimmung der Toxizität von HFB₁ anhand des Sa/So-Verhältnisses im Urin erwies sich aufgrund der nicht-invasiven Probengewinnung und der aussagekräftigen Resultate als vorteilhaft. Dieser Aspekt soll in zukünftigen Studien zur Evaluierung der Toxizität von Fumonisin-Derivaten Beachtung finden.

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 möchten wir dem Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie (TTE) der Universität für Bodenkultur Wien, insbesondere Bozena Rychlik und Katharina Ebner, für die Unterstützung während der Durchführung des Versuches recht herzlich danken. Darüber hinaus gilt unser Dank Dr. Alexander Tichy für seine Beratung während der Planung der Studie.

Literatur

- Blum, M., 2011: Produktion und Aufreinigung der Mykotoxine Zearalenon, Deoxynivalenol und Fumonisin B1. Bachelorarbeit FH Wiener Neustadt.
- Cai, Q., Tang, L., Wang, J. S., 2007: Validation of fumonisin biomarkers in F344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 225, 28-39.
- Garren, L., Galendo, D., Wild, C.P., Castegnaro, M., 2001: The induction and persistence of altered sphingolipid biosynthesis in rats treated with fumonisin B1. *Food Addit. Contam.* 18, 850-856.
- Heinl, S., Hartinger, D., Thamhesl, M., Vekiru, E., Krska, R., Schatzmayr, G., Moll, W., Grabherr, R., 2010: Degradation of fumonisin B₁ by the consecutive action of two bacterial enzymes. *J. Biotechnol.* 145, 120-129.
- Howard, P.C., Couch, L.H., Patton, R.E., Eppley, R.M., Doerge, D.R., Churchwell, M.I., Marques, M.M., Okerberg, C.V., 2002: Comparison of the toxicity of several fumonisin derivatives in a 28-day feeding study with female B6C3F1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 185, 153-165.
- Humpf, H.U., Voss, K.A., 2004: Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. *Mol. Nutr. Food Res.* 48, 255-269.
- Rheeder, J., Marasas, W., & Vismer, H. (2002): Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl Environ Microbiol* 68, S. 1201-1205.
- Riley, R.T., Voss, K.A., 2006: Differential Sensitivity of Rat Kidney and Liver to Fumonisin Toxicity: Organ-Specific Differences in Toxin Accumulation and Sphingoid Base Metabolism. *Toxicol. Sci.* 92, 335-345.
- Ross, P.F., Rice, L.G., Osweiler, G.D., Nelson, P.E., Richard, J.L., Wilson, T.M., 1992: A review and update of animal toxicoses associated with fumonisin-contaminated feeds and production of fumonisins by *Fusarium* isolates. *Mycopathologia* 117, 109-114.
- SCF (Scientific Committee on Food), 2000. Opinion of the Scientific committee on Food on fusarium toxins part 3: Fumonisin B₁. SCF/CS/CNTM/MAYC/24 Final. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out73_en.pdf, letzte Einsichtnahme: 2013-02-26.
- Schöner, I., Greitbauer, O., Hametner, C., Moll, W-D., Krska, R., Berthiller, F., Schwartz, H., 2011: Production of partially hydrolyzed fumonisins B1 as standards for determination of fumonisin biomarkers in biological samples. Proc. 33rd Mycotoxin-Workshop, Freising, Germany, 71.

Solfrizzo, M., Carratu, M.R., Avantaggiato, G., Galvano, F., Pietri, A., Visconti, A., 2001: Ineffectiveness of activated carbon in reducing the alteration of shingolipid metabolism in rats exposed to fumonisin-contaminated diets. *Food Chem. Toxicol.* 39, 507-511.

Song, S., Ediage, E.N., Wu, A., De Saeger, S., 2013: Development and application of salting-out assisted liquid/liquid extraction for multi-mycotoxin biomarkers analysis in pig urine with high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A, in press.*

Turner, P.C., Flannery, B., Isitt, C., Ali, M., Pestka, J., 2012: The role of biomarkers in evaluating human health concerns from fungal contaminants in food. *Nutr. Res. Rev.* 25, 162-179.

Voss, K.A., Riley, R.T., Bacon, C.W., Meredith, F.I., Norred, W. P., 1998: Toxicity and shinganine levels are correlated in rats fed fumonisin B1 (FB1) or hydrolyzed FB1. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 5, 101-104.

Voss, K.A., Smith, G.W., Haschek, W. M., 2007: Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Animal Feed Sci. Technol.* 137, 299-325.

Voss, K.A., Riley, R.T., Snook, M.E., Gelineau-van Weas, J., 2009: Reproductive and Sphingolipid Metabolic Effects of Fumonisin B1 and its Alkaline Hydrolysis Product in LM/Bc Mice: Hydrolyzed Fumonisin B1 Did Not Cause Neural Tube Defects. *Toxicol. Sci.* 112, 459-467.

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

Der Einfluss von Fumonisin B₁ und dessen hydrolysiertem Derivat auf die Darmmorphologie bei Ratten

Elisabeth Gruber¹, Veronika Nagl² und Christiane Mair¹

¹ Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie, BOKU – Universität für Bodenkultur Wien, AT

² Analytikzentrum, Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie, BOKU – Universität für Bodenkultur Wien, Standort Tulln, AT

Einleitung

Mykotoxine sind natürliche Giftstoffe, welche als sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen gebildet werden. Sie zeigen große Unterschiede in ihrer chemischen Struktur und somit in ihrer Wirkung. Derzeit sind mehr als 400 verschiedene Verbindungen bekannt. Die Aufnahme von Mykotoxinen über die Nahrung, durch Einatmen oder durch Hautkontakt kann zu gesundheitlichen Schäden und Vergiftungen bei Mensch und Tier führen (Bartels und Rodemann 2003, Gareis 1999).

Von der FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) wird geschätzt, dass weltweit ca. 25% der gesamten Nahrungs- und Futtermittel Mykotoxine enthalten (Bartels und Rodemann 2003). Ein aktuelles europäisches Review beschreibt, dass in verschiedenen Multi-Mykotoxin-Studien ein Anteil von 75-100% der untersuchten Futterproben mit mindestens einem Mykotoxin belastet war (Streit et al. 2012). In einer Studie von Lew et al. (2001) wurde über drei Vegetationsperioden ein Fusarienbefall an verschiedenen Maissorten und Standorten in Österreich untersucht. Fusarien sind „Feld-Pilze“, da sie Mykotoxine, wie Deoxynivalenol, Diacetoxyscirpenol, Fumonisine, HT-2 Toxin, Moniliformin, Nivalenol, T-2 Toxin und Zearalenon (Gareis 1999) vor der Ernte auf dem Feld produzieren (Rodemann 1999). Lew et al. (2001) stellten fest, dass zwischen 6,1% und 10,5% der Maispflanzen mit Fusarien befallen waren. Die Artenzusammensetzung und Toxingehalte der Fusarien, sowie die Befallsstärke waren von den klimatischen Bedingungen abhängig. Auch Fumonisin B₁ (FB₁) konnte in dieser Studie auf den Maispflanzen nachgewiesen werden.

FB₁ kommt von allen Fumonisinen am häufigsten vor und wird von mehreren *Fusarium*-Pilzen gebildet, hauptsächlich aber von *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg und *Fusarium proliferatum* (Gelderblom et al. 1988, Thiel et al. 1991). Da diese Pilze vorwiegend auf Maispflanzen wachsen und weltweit verbreitet sind, kann das Mykotoxin FB₁ vor allem auf Mais und Mais-Produkten nachgewiesen werden (Thiel et al. 1991). Der Körnermais spielt für die Getreideernte in Österreich eine bedeutende Rolle, da er mit 2,45 Mio. t den Großteil der Gesamternte (5,67 Mio. t) ausmacht. Mais als Rohstoff für Lebensmittel und Futtermittel ist somit für Mensch und Tier von großer Bedeutung (BMLFUW 2012). Aus diesem Grund ist die Kenntnis über die Auswirkungen von FB₁ auf die menschliche und tierische Gesundheit sehr wichtig. FB₁ kann gesundheitliche Schäden bei Menschen und Tieren hervorrufen, die Krankheitsbilder sind dabei von Spezies zu Spezies unterschiedlich. FB₁ hemmt die Sphingolipid Biosynthese, hat eine nephro- und hepatotoxische Wirkung (Riley et al. 1994) und ist kanzerogen (Hard et al. 2001, Gelderblom et al. 1991). Zu erwähnen sind außerdem beim Pferd die Krankheit Equine Leukoencephalomalazie (Ross et al. 1993) und beim Schwein das Lungen-Ödem und der Hydrothorax (Harrison et al. 1990).

Während der Verarbeitung der befallenen Maiskörner können so genannte Fumonisinderivate entstehen: Durch eine alkalische Behandlung von FB₁ werden beispielsweise die Tricarballicsäure-

Seitenketten von FB₁ gespalten, was zur Bildung von hydrolysiertem FB₁ (HFB₁) führt. Die Umwandlung von FB₁ zu HFB₁ kann auch durch mikrobiologische Degradation erfolgen, indem Fumonisin Carboxylesterase, ein spezifisches Enzym des FB₁ Metabolismus, eingesetzt wird (Heinl et al. 2009, Hartinger und Moll 2011). Verglichen mit FB₁ hat HFB₁ nach einer Studie von Grenier et al. (2012) eine geringe intestinale oder hepatische Toxizität. Abgesehen von der erwähnten Studie, welche an Absetzferkeln durchgeführt wurde, findet man zum aktuellen Zeitpunkt kaum Literatur zum Einfluss von FB₁ oder HFB₁ auf die Darmmorphologie. Der Darm, als erste Kontaktfläche der Fumonisine mit dem Organismus, kann alimentär mit hohen Mykotoxinkonzentrationen konfrontiert sein. Angesichts der vielfältigen Krankheitsausprägungen durch die Aufnahme von Fumonisinen ist zu erwarten, dass speziesspezifische Unterschiede hinsichtlich der intestinalen Toxizität bestehen.

Nachdem Mykotoxinforschung häufig auch an Modelltieren, wie zum Beispiel an Labornagern, durchgeführt wird, sind Unterschiede in der intestinalen Reaktion auf Fumonisine im Vergleich zu Nutztieren oder dem Menschen für die Interpretation von Mykotoxinwirkungen von Interesse. Aus diesem Grund beschäftigt sich der vorliegende Beitrag mit der Frage, ob Fumonisin B₁ und dessen hydrolysiertes Derivat einen Einfluss auf die morphologische Architektur der Darmmucosa von Ratten haben.

Material und Methoden

Um zu untersuchen, ob Fumonisine einen Einfluss auf die Darmmorphologie bei Ratten haben, wurde ein Fütterungsversuch an 20 männlichen Sprague Dawley Ratten (Hsd:Sprague Dawley, Harlan Laboratories) im Alter von fünf Wochen durchgeführt (vergleiche Nagl et al. 2013). Die Versuchstiere wurden bei ihrer Ankunft gewogen (durchschnittlich 111 g Körpergewicht) und aufgrund ihres Gewichtes gleichmäßig einer von 5 Gruppen zugeteilt (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht der Versuchsgruppen

Gruppenbezeichnung	n/Gruppe	Zugesetztes Fumonisin	Konzentration im Futter
Kontrolle (K)	4	-	-
FB ₁ niedrig	4	FB ₁	13,9 µmol/kg
FB ₁ hoch	4	FB ₁	69,3 µmol/kg
HFB ₁ niedrig	4	HFB ₁	13,9 µmol/kg
HFB ₁ hoch	4	HFB ₁	69,3 µmol/kg

Die Haltung der Ratten erfolgte dabei paarweise in Makrolon Typ III Käfigen. Während einer Akklimatisierungsphase von 7 Tagen wurden die Tiere mit einem kommerziellen, mykotoxinfreien Kontrollfutter gefüttert. Während des vierwöchigen Fütterungsversuches wurden die Versuchsdäten (12,8 MJ ME/kg, 19,9 % XP in der Frischmasse) ad libitum angeboten. Am Versuchstag 28 wurden nach erfolgter Anästhesie und Euthanasie die Gewebeproben von Jejunum (~ 25 cm oberhalb der Einmündung von Ileum in den Colon), distalem Ileum und Colon (auf halber Höhe zwischen proximalem Colon und Rectum) post mortem entnommen. Diese Darmproben wurden gründlich gespült, in HOPE[®]-Lösung (Hepes Glutamic Acid Buffer Mediated Organic Solvent Protection Effect; DCS, Hamburg) fixiert und in Paraffinblöcke eingebettet. Anschließend wurden Gewebeschnitte von 6 µm mit einem Mikrotom hergestellt, welche für eine HE-Färbung entparaffiniert und rehydratisiert wurden. Bei der HE-Färbung werden die Zellkerne durch die Hämalanlösung sauer nach Mayer blau gefärbt, während das Zytoplasma und Kollagen durch Eosin rot gefärbt werden. Dabei wurde nach der Gebrauchsanweisung für HOPE[®]-Fixierung (DCS 2007) mit wenigen Modifizierungen vorgegangen.

Zum Messen der histologischen Schnitte wurde das Lichtmikroskop Leica DM6000 B (Leica, Darmstadt, Deutschland) inklusive Kamera (Leica DFC310 FX) verwendet. Die Auswertung der digitalen Bilder erfolgte mittels Leica Application Suite Software (V3.5.0, Leica, Darmstadt, Deutschland). Gemessen

wurden die Zottenlänge, -breite und -fläche im Jejunum und Ileum, sowie die Kryptentiefe im Jejunum, Ileum und Colon von je sechs verschiedenen Zotten bzw. Krypten je Tier und Darmabschnitt. Des Weiteren wurde das Verhältnis von Zottenlänge zu Kryptentiefe (V/C-Ratio) in Jejunum und Ileum rechnerisch ermittelt.

Die statistische Auswertung der gemittelten Daten erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Mit der Prozedur UNIVARIATE erfolgte der Test auf Normalverteilung mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$. Anschließend wurde mit der Prozedur GLM eine zweifache Varianzanalyse mit Wechselwirkung mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ durchgeführt. Als Faktoren kamen dabei der Fumonisin-Zusatz (kein Zusatz, FB₁, HFB₁) sowie die Konzentration (0, 13,9 oder 69,3 $\mu\text{mol/kg}$ Futter) zur Anwendung. Im Falle einer signifikanten Interaktion der Faktoren wurde ein Mittelwertvergleich nach Tukey-Kramer durchgeführt. Bei den tabellierten Ergebnissen handelt es sich um die least square means (LS-Means) sowie dem Standardfehler des Mittelwertes (SEM).

Ergebnisse

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der histometrischen Analysen im Dünn- und Dickdarm der Sprague Dawley Ratten dargestellt. Die Zottenlänge, Zottenbreite, sowie die Zottenfläche in Jejunum und Ileum wurden weder von Fumonisin noch von der Konzentration signifikant beeinflusst. Die ermittelten Unterschiede der Kryptentiefe in Abhängigkeit von der Konzentration waren ebenfalls nicht signifikant.

Für die Kryptentiefe im Jejunum bestand eine Wechselwirkung zwischen dem Fumonisinzusatz und der applizierten Konzentration. Das niedrig konzentrierte FB₁ bewirkte dabei eine größere Kryptentiefe, während das hoch konzentrierte FB₁ zu kürzeren Krypten führte. Das Fumonisin HFB₁ hatte jedoch die gegenteilige Wirkung (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Zottenlänge (μm), -breite (μm) und -fläche (μm^2) sowie Kryptentiefe (μm) in Jejunum, Ileum und Colon von Ratten nach Fütterung von ansteigenden FB₁ bzw. HFB₁ Konzentrationen

	K	FB ₁		HFB ₁		SEM	p-Wert		
		niedrig	hoch	niedrig	hoch		F ¹	K ²	F*K
Jejunum									
Zottenlänge	531,6	512,5	512,8	505,9	552,8	13,0	n.s.	n.s.	n.s.
Zottenbreite	103,6	105,3	96,7	107,4	108,4	4,4	n.s.	n.s.	n.s.
Zottenfläche	24.277	27.613	23.373	28.920	34.093	2.403	n.s.	n.s.	n.s.
Kryptentiefe	143,7	149,3	141,0	130,4	147,7	2,6	n.s.	n.s.	*
V/C-Ratio ³	3,71	3,44	3,65	3,90	3,74	0,10	n.s.	n.s.	n.s.
Ileum									
Zottenlänge	444,7	467,7	467,7	442,2	502,6	10,1	n.s.	n.s.	n.s.
Zottenbreite	95,9	97,0	97,0	102,0	112,1	4,0	n.s.	n.s.	n.s.
Zottenfläche	24.277	23.825	23.825	20.848	28.092	1.268	n.s.	(*)	n.s.
Kryptentiefe	146,7	137,0	137,0	164,1	174,5	4,4	*	n.s.	n.s.
V/C-Ratio ³	3,03	3,15	3,42	2,71	2,90	0,08	*	n.s.	n.s.
Colon									
Kryptentiefe	221,0	246,0	246,0	226,8	224,8	6,9	n.s.	n.s.	n.s.

¹ Fumonisin, ² Konzentration, ³ Verhältnis Zottenlänge / Kryptentiefe

* signifikant ($p < 0,05$); (*) = tendenzieller Unterschied ($0,05 < p < 0,10$); n.s. nicht signifikant ($p > 0,10$)

Die Kryptentiefe war vergleichbar zwischen den Gruppen und betrug durchschnittlich 142,6 μm im Jejunum und 225,9 μm im Colon ($p > 0,05$). Im Ileum variierte die Kryptentiefe in Abhängigkeit vom Faktor Fumonisin zwischen 139,9 μm (FB₁) und 169,3 μm (HFB₁), siehe Abbildung 1. Jene Gruppe, der

das Fumonisin HFB₁ gefüttert wurde, zeigte signifikant tiefere Krypten im Vergleich zur Kontrollgruppe und der Gruppe mit FB₁.

Während zwischen den einzelnen Gruppen nur numerische Unterschiede (FB₁ niedrigere und HFB₁ höhere Ratio im Vergleich zur Kontrolle) bei der V/C-Ratio im Jejunum ermittelt wurden, zeigten die FB₁-gefütterten Tiere im Ileum eine signifikant höhere V/C-Ratio im Vergleich zu den HFB₁-Tieren.

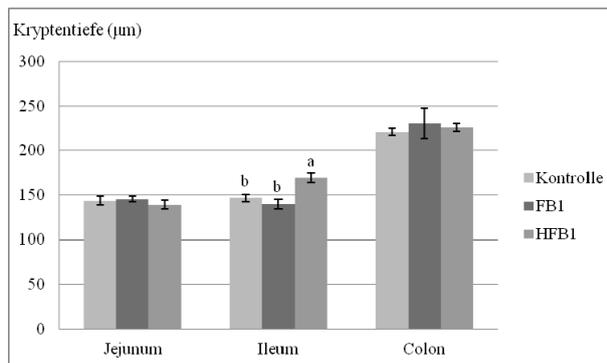


Abbildung 1: Kryptentiefe in Abhängigkeit von Fumonisin

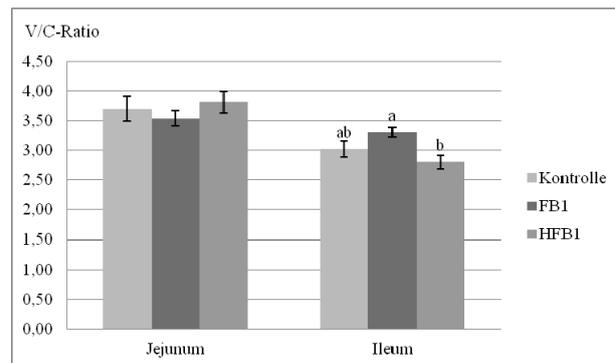


Abbildung 2: V/C-Ratio in Jejunum und Ileum in Abhängigkeit von Fumonisin

Diskussion

Durch Vergleichen der Werte von Zottenlänge und Kryptentiefe der Kontrollgruppe mit den Werten der Kontrollgruppen anderer Studien (Ben-Lulu et al. 2012, Koppelman et al. 2012, Kroth 2011 und Zhao et al. 2013), kann gezeigt werden, dass die ermittelten histometrischen Daten im physiologischen Bereich für Ratten liegen.

Die Studie von Grenier et al. (2012) befasste sich mit dem Einfluss von Fumonisin B₁ und hydrolysiertem Fumonisin B₁ auf den Dünndarm von vier Wochen alten, weiblichen Ferkeln. Dazu wurden je sechs Ferkel für 14 Tage mit Kontrollfutter, 2,8 µmol FB₁/kg Körpergewicht und Tag bzw. 2,8 µmol HFB₁/kg Körpergewicht und Tag gefüttert. Bei HFB₁ blieben die Zottenlängen im Vergleich zu Kontrolle unverändert. FB₁ zeigte jedoch einen signifikanten Einfluss auf die Zottenlänge im mittleren (-20%) und distalen (-31%) Dünndarmabschnitt. Diese Ergebnisse decken sich nicht mit jenen unseres Versuches. Hier konnten zwar im Jejunum numerisch kürzere Zotten durch FB₁ beobachtet werden, im Ileum waren diese demgegenüber aber numerisch erhöht. Die Stichprobenanzahl war jedoch zu gering um diese Beobachtungen statistisch absichern zu können ($p > 0,05$).

Höhere FumonisinKonzentrationen wurden von Lessard et al. (2009) in einer 9-tägigen Fütterungsintervention beim kastrierten Absetzferkeln eingesetzt. Dabei zeigten ~25-30 mg FB₁/kg Futter keine Veränderung auf die Zottenlänge im Jejunum. Im Ileum tendierten die Tiere der Versuchsgruppe ebenfalls zu längeren Zotten, allerdings waren die Unterschiede auch bei Lessard nicht signifikant ($p = 0,07$).

Bracarense et al. (2011) untersuchten den Einfluss einer fünf-wöchigen Exposition mit Deoxynivalenol (DON, bis 3,1 mg/kg Futter) und Fumonisin (FB: Mischung aus FB₁ und FB₂, bis 6,5 mg/kg Futter) sowie deren Kombination auf den Darm von fünf Wochen alten, kastrierten, männlichen Ferkeln. Dabei wurde die Zottenlänge zwar durch die Gabe von DON, aber nicht durch FB signifikant reduziert. Auch auf die Kryptentiefe zeigte FB in der Studie keinen Einfluss. Die Ergebnisse für FB decken sich mit unseren Beobachtungen, obwohl hier die Absolutkonzentration im Ferkelfutter geringer als in den hochdosierten Fumonisiergruppen der Ratten war.

Die Kryptentiefe zeigte sowohl in unserer Studie als auch bei Lessard et al. (2009) keine Veränderungen durch die Behandlung mit FB₁. Kombiniert man jedoch die histometrischen Daten der Zottenlänge und Kryptentiefe in Ileum unserer Ratten, so zeigt sich, dass die V/C-Ratio bei den FB₁ gefütterten Ratten sogar signifikant höhere Werte als bei den HFB₁-Ratten aufwies. Eine Erhöhung des Verhältnisses von Zottenlänge zu Kryptentiefe geht mit einer Vergrößerung der Resorptionsoberfläche einher (Caspary 1992). Die verwendeten Konzentrationen an Fumonisin sowie die Dauer der Exposition mit FB₁ scheinen also keinen negativen Einfluss auf die mucosale Architektur im Ileum zu haben.

Unseres Wissens gibt es bisher keine Studie, die den Einfluss von HFB₁ auf die Kryptentiefe untersucht hat. Jene Gruppe, der das Fumonisin HFB₁ gefüttert wurde, zeigte im vorliegenden Fütterungsversuch signifikant tiefere Krypten im Vergleich zur Kontrollgruppe und der Gruppe mit FB₁. Krypten dienen vor allem der Oberflächenvergrößerung und Sekretion und sind der Ort der Epithelzellreplikation (Engelhardt und Breves 2010). Nachdem die Vertiefung der Krypten nicht mit längeren Zotten einherging, wurden Reduktionen (-7,4% zur Kontrolle) in der ilealen V/C-Ratio verzeichnet.

Die teils widersprüchlichen Ergebnisse im Literaturvergleich könnten auf die Betrachtung unterschiedlicher Tierarten zurückzuführen sein. Ferkel scheinen dabei hoch sensibel auf FB₁ zu reagieren (Grenier et al. 2012). Aus diesem Grund könnten die negativen Auswirkungen auf die Darmmorphologie bei Schweinen intensiver als bei Ratten sein, vor allem wenn man miteinbezieht, dass die bei Ferkeln verwendeten Konzentrationen bei Grenier et al. (2012) und bei Bracarense et al. (2011) in der Größenordnung der FB₁- und HFB₁-niedrig-Gruppen lagen. Zudem war die Dauer der Fumonisin-Expositionen in den Vergleichsstudien zum Teil deutlich geringer.

Schlussfolgerungen

Fumonisin B₁ sowie hydrolysiertes Fumonisin B₁ zeigten in der vorliegenden Studie keinen signifikanten Einfluss auf die Zottenlänge, -breite und -fläche im Dünndarm. Jedoch konnte die ileale V/C-Ratio durch FB₁ erhöht sowie die Krypten im Ileum durch HFB₁ im Futter signifikant vertieft werden. Inwiefern sich diese Veränderungen auf die Absorptionsfähigkeit und die intestinale Barrierefunktion auswirken, sollte in weiterführenden Studien mit einem höheren Stichprobenumfang untersucht werden. Aus den Ergebnissen der Studie wird deutlich, dass die Übertragbarkeit von Ergebnissen aus Versuchen mit Laborratten, beispielsweise auf das Absatzferkel, nur bedingt gegeben ist und die Dosis-Wirkungs-Beziehung daher in der jeweiligen Spezies getestet werden sollte.

Literatur

- Bartels, G. und Rodemann, B. (2003): Strategien zur Vermeidung von Mykotoxinen im Getreide. *Gesunde Pflanzen* 55. Jahrg., Heft 5, 125-126.
- Ben-Lulu, S.; Pollak, Y.; Mogilner, J.; Bejar, J.; Coran, A.G. und Sukhotnik, I. (2012): Dietary Transforming Growth Factor-Beta 2 (TGF-β2) Supplementation Reduces Methotrexate-Induced Intestinal Mucosal Injury in a Rat. *PLOS ONE*, 7 (9), e45221
- BMLFUW (2012): Grüner Bericht 2012, Bericht über die Situation der österreichischen Land- und Forstwirtschaft, at: http://www.lebensministerium.at/publikationen/land/gruener_bericht/gruenerbericht2012.html (22.01.2013).
- Bracarense, A.-P.F.L.; Luciola, J.; Grenier, B.; Pacheco, G.D.; Moll, W.-D.; Schatzmayr, G. und Oswald, I.P. (2011): Chronic ingestion of deoxynivalenol and fumonisin, alone or in interaction, induces morphological and immunological changes in the intestine of piglets. *British Journal of Nutrition*, 107, 17761786.
- Caspary, W.F. (1992): Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 55, 299S-308S.
- DCS (2007): Gebrauchsanweisung HOPE®-Fixierung, at: http://www.dcs-diagnostics.de/data/HOPE_Manual_070801.pdf (05.02.2013).
- Engelhardt, W. und Breves, G. (2010): *Physiologie der Haustiere*. 3., vollständig überarbeitete Auflage, Stuttgart: MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG.
- Gareis, M. (1999): Mykotoxine und Schimmelpilze. *Forschungsreport* 2/1999, 4-5.

- Gelderblom, W.C.A.; Jaskiewicz, K.; Marasas, W.F.O.; Thiel, P.G.; Horak, R.M.; Vlegaar, R. und Kriek, N.P.J. (1988): Fumonins-Novel Mycotoxins with Cancer-Promoting Activity Produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, 54 (7), 1806-1811.
- Gelderblom, W.C.A.; Kriek, N.P.J.; Marasas, W.F.O. und Thiel, P.G. (1991): Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B₁, in rats. *Carcinogenesis*, 12 (7), 1247-1251.
- Grenier, B.; Bracarense, A.-P.F.L.; Schwartz, H.E.; Trumel, C.; Cossalter, A.-M.; Schatzmayr, G.; Kolf-Clauw, M.; Moll, W.-D. und Oswald, I.P. (2012): The low intestinal and hepatic toxicity of hydrolyzed fumonisin B₁ correlates with its inability to alter the metabolism of sphingolipids. *Biochemical Pharmacology* 83, 1465-1473.
- Hard, G.C.; Howard, P.C.; Kovatch, R.M. und Bucci, T.J. (2001): Rat Kidney Pathology Induced by Chronic Exposure to Fumonisin B₁ Includes Rare Variants of Renal Tubule Tumor. *Toxicologic Pathology*, 29 (3), 379-386.
- Harrison, L.R.; Colvin, B.M.; Greene, J.T.; Newman, L.E. und Cole, J.R., Jr. (1990): Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B₁, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2, 217-221.
- Harteringer, D. und Moll, W.-D. (2011): Fumonisin elimination and prospects for detoxification by enzymatic transformation. *World Mycotoxin Journal* 4 (3), 271-283.
- Heinl, S.; Harteringer, D.; Thamshel, M.; Vekiru, E.; Krska, R.; Schatzmayr, G.; Moll, W.-D. und Grabherr, R. (2009): Degradation of fumonisin B₁ by the consecutive action of two bacterial enzymes. *Journal of Biotechnology* 145, 120-129.
- Koppelman, T.; Pollak, Y.; Mogilner, J.; Bejar, J.; Coran, A.G. und Sukhotnik, I. (2012): Reversal of severe methotrexate-induced intestinal damage using enteral n-3 fatty acids. *British Journal of Nutrition* 109, 89-98.
- Kroth, T. (2011): Einfluss von Seltenen Erden auf die scheinbare Verdaulichkeit der Roh Nährstoffe bei wachsenden Ratten. Dissertation, Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Lessard, M.; Boudry, G.; Seve, B.; Oswald, I.P. und Lalles, J.-P. (2009): Intestinal Physiology and Peptidase Activity in Male Pigs Are Modulated by Consumption of Corn Culture Extracts Containing Fumonins. *The Journal of Nutrition* 139, 1303-1307.
- Lew, H.; Adler, A.; Edinger, W.; Brodacz, W.; Kiendler, E. und Hinterholzer, J. (2001): Fusarien und ihre Toxine bei Mais in Österreich. *Die Bodenkultur* 52 (3), 199-207.
- Nagl, V., Schwartz, H., Mair, C., Varga, E., Slavik, V., Krska, R. und Berthiller, F. (2013): Bestimmung der Toxizität von hydrolysiertem Fumonisin B₁ (HFB₁) anhand des Sphinganin-zu-Sphingosin Verhältnisses in Ratten. In: Mair, C., Kraft, M., Wetscherek, W. und Schedle, K.: Tagungsband 12. BOKU Symposium Tierernährung 2013. Auf der Suche nach neuartigen Futtermitteln und Technologien in der Tierernährung. Eigenverlag, Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Wien; S304-309
- Riley, R.T.; Hinton, D.M.; Chamberlain, W.J.; Bacon, C.W.; Wang, E.; Merrill, A.H., Jr. und Voss, K.A. (1994): Dietary Fumonisin B₁ Induces Disruption of Sphingolipid Metabolism in Sprague-Dawley Rats: A New Mechanism of Nephrotoxicity. *The Journal of Nutrition*, 124 (4), 594-603.
- Rodemann, B. (1999): Mykotoxine im Getreide. *Forschungsreport* 2/1999, 6-9.
- Ross, P.F.; Ledet, A. E.; Owens, D.L.; Rice, L.G.; Nelson, H.A.; Osweiler, G.D. und Wilson, T.M. (1993): Experimental equine leukoencephalomalacia, toxic hepatitis, and encephalopathy caused by corn naturally contaminated with fumonins. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 5, 69-74.
- Streit, E.; Schatzmayr, G.; Tassis, P.; Tzika, E.; Marin, D.; Taranu, I.; Tabuc, C.; Nicolau, A.; Aprodu, I.; Puel, O. und Oswald, I.P. (2012): Current Situation of Mycotoxin Contamination and Co-occurrence in Animal Feed—Focus on Europe. *Toxins* 4, 788-809
- Thiel, P.G.; Marasas, W.F.O.; Sydenham, E.W.; Shephard, G.S.; Gelderblom, W.C.A. und Nieuwenhuis, J.J. (1991): Survey of Fumonisin Production by *Fusarium* Species. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, (4), 1089-1093.
- Zhao, J.; Chen, P. und Gregersen, H. (2013): Morpho-mechanical intestinal remodeling in type 2 diabetic GK rats — Is it related to advanced glycation end product formation? At: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2013.01.010> (21.02.2013).

Autorenanschrift

Elisabeth Gruber
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie
Interuniversitäres Department für Agrarbiotechnologie
BOKU – Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11; A-1190 Wien
E-Mail: gr.el@gmx.at

Jetzt mit
MLA-Technologie

Leistung, Flexibilität und Stabilität



Econase XT bietet als einziges Enzymprodukt am Markt

- hervorragende Wirksamkeit im Tier
- Hitzestabilität > 90°C ohne Coating
- höchste Wirtschaftlichkeit und Flexibilität im Einsatz, jetzt mit MLA-Technologie (Dosierung des flüssigen Produktes direkt in den Chargenmischer)

Finden Sie mehr heraus: enzyme@pulte.de, + 49 (0)89 649 628 90



Charakterisierung des ruminalen Mikrobioms durch DNA-Klassifizierung mittels qPCR

Elisabeth Lederer, Wilhelm Windisch und Carmen Fahn

Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München, München, DE

Einleitung

Das ruminale Mikrobiom der Wiederkäuer trägt im Wesentlichen dazu bei, pflanzliche Faser aufzuschließen und verdaulich zu machen. Es bildet im Pansen ein anaerobes mikrobielles Ökosystem aus Eukaryoten, Bakterien und Archaea. Man schätzt, dass 1 Gramm Panseninhalt etwa 10^9 bis 10^{11} Bakterien, 10^6 Protozoen und bis zu 10^5 Pilzen beherbergt (Jeroch et al. 2008). Allerdings sind schätzungsweise nicht einmal 10 % aller Pansenmikroben bekannt (Michalet-Doreau et al. 2002). Um die Vorgänge und Interaktionen der Hauptkomponenten des ruminalen Mikrobioms bei der Pansenfermentation zu verstehen, war man bislang auf die Messung (bio)chemischer Endpunkte angewiesen, wie etwa die Bestimmung von flüchtigen Fettsäuren und von Methan sowie die „ruminale Verdaulichkeit“ beispielsweise der Faserkomponenten des Futters (Mackie 1997). Inzwischen kann man jedoch mittels molekularbiologischer Methoden mikrobielle DNA aus dem Pansen extrahieren und etwa über qPCR die Pansenmikroben sehr genau messen (Tajima et al. 2001; Ouwerkerk et al. 2002; Klieve et al. 2003). Die bisherigen Arbeiten begrenzen sich jedoch hauptsächlich auf den Nachweis einzelner Spezies von Pansenmikroben. Ziel der vorliegenden Pilotstudie war deshalb die Erweiterung der molekularbiologischen Messung auf funktionelle Gruppen des ruminalen Mikrobioms. Damit sollte ein Weg eröffnet werden, die dynamischen Wechselwirkungen der ruminalen Pansenfermentation auf der Ebene des gesamten Mikrobioms in hoher zeitlicher Auflösung zu beobachten.

Material und Methoden

Es standen 7 nicht-laktierende Milchkühe der Rasse Holstein Friesian zur Verfügung (Lebendmasse etwa 650 kg), die mit einer Pansenfistel versehen waren (Bar Diamond Inc., Parma, Idaho, USA; 10 cm Durchmesser). Die Tiere wurden in einem klimatisierten Stall gehalten und auf dem Niveau des energetischen Erhaltungsbedarfs gefüttert. Hierzu erhielten sie täglich um 7 und 16 Uhr jeweils 3 kg Heu. Tränkwasser und Salzblöcke standen ad libitum zur Verfügung.

Nach drei Wochen Adaptation an die Fütterung wurde allen Tieren über die Pansenfistel zu den folgenden 4 Zeitpunkten nach der Morgenfütterung jeweils 100 ml Pansensaft und 150 g Festmaterial aus der Pansenmatte gezogen: 0 Stunden (unmittelbar vor der Fütterung), 1½, 3 sowie 6 Stunden nach der Fütterung. Die Proben wurden sofort tiefgefroren, gefriergetrocknet und anschließend in einem gereinigten Porzellanmörser vermahlen und homogenisiert. Die Extraktion der DNA aus den gefriergetrockneten Proben erfolgte beim Pansensaft mittels Phasentrennung unter Zugabe des Reagenz Qiazol (Qiagen, Deutschland) und Chloroform. Die DNA aus dem Festmaterial wurde durch eine modifizierte RBB+C Methode (Phenol-Chloroform-Reaktion und Aufreinigung über Silicamembran) nach Yu und Morrison (2004) extrahiert.

Als funktionelle Gruppen des ruminalen Mikrobioms sollten die anaeroben Pilze, Protozoen, die Gesamtsumme an Bakterien sowie die Amylolyten erfasst werden. Bei den Cellulolyten bestand keine gruppenübergreifende genetische Gemeinsamkeit, weshalb *Fibrobacter succinogenes* und *Ruminococ-*

cus flavefaciens als Stellvertreter gewählt wurden. Die qPCR wurde mit dem SensiFast SYBR, No-ROX Kit (Bioline, Luckenwalde, Deutschland) durchgeführt. Die Sequenzen der verwendeten Primer (Konzentration von 300 nM) zum Nachweis von anaeroben Pilzen, allgemeinen Bakterien sowie Protozoen wurden aus der Literatur übernommen (Denmann and McSweeney 2006; Boguhn et al. 2010; Sylvester et al. 2004) und von Eurofins MWG Operon (Ebersberg, Deutschland) synthetisiert. Der hier verwendete Mastermix bestand pro Reaktion aus 7,5 µl SYBR Green, 0,6 µl Primer forward, 0,6 µl Primer reverse, 4,8 µl Nuklease-freiem Wasser und jeweils 1,5 µl DNA-Extrakt. Die Messung erfolgte auf einer 96-well Platte im Doppelansatz. Die qPCR wurde mit dem Realplex ep gradient s Mastercycler (Eppendorf, Deutschland) nach folgendem Temperaturprogramm durchgeführt: Hot-Start (2 min, 95 °C), im Anschluss 40 Zyklen mit Denaturierung (5 s, 95 °C), Annealing (10 s, 55,2–65 °C), Elongation (8 s, 72 °C) und Schmelzkurvenanalyse.

Die Proben wurden mittels Standardkurve absolut quantifiziert und mit dem nichtparametrischen t-Test aus den Mittelwerten ausgewertet. Es wurde ein Signifikanzniveau von 5 % angenommen.

Ergebnisse

Die nachfolgenden Abbildungen 1 und 2 zeigen die Entwicklung der ruminalen Population an anaeroben Pilzen und Protozoen im Zeitverlauf nach der Fütterung. Hierbei wurden die Messungen aus dem gefriergetrockneten Pansensaft und dem Festmaterial gemittelt.

Sowohl bei den Pilzen als auch bei den Protozoen stieg die Anzahl der gemessenen Mikroben in den ersten 90 Minuten nach der Fütterung um etwa eine Zehnerpotenz an und sank danach wieder gleichmäßig ab. Dieses Zeitprofil wurde durch statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Mittelwerten einzelner Zeitpunkte untermauert. Während die Pilze innerhalb von 6 Stunden nach der Fütterung wieder ihr Ausgangsniveau erreichten, fielen die Protozoen sogar noch unter den Ausgangswert unmittelbar vor Beginn der Morgenfütterung.

Bei der Analyse der Gesamtsumme an Bakterien kam es im Festmaterial des Pansens zu Interferenzen, die auf eine mögliche Kontamination mit DNA aus den Futterpflanzen hinweisen könnten. Aus diesem Grund wurden für die Gesamtsumme an Bakterien nur die Daten aus dem Pansensaft ausgewertet.

Wie Abbildung 3 zeigt, kam es im Zeitverlauf nach Fütterung zu einem statistisch signifikanten Abfall der Bakteriendichte, die bis zur Stunde 6 nach der Fütterung etwa eine Zehnerpotenz gegenüber dem Ausgangswert betrug.

Abbildung 4 zeigt die Relationen von amylolytischen Bakterien zu *Ruminococcus flavefaciens* im Zeitverlauf nach der Morgenfütterung. Die Angaben stellen wie in Abbildung 1 und 2 wieder den Mittelwert aus den Messungen im Festmaterial und im Pansensaft dar. Der Anteil an Amyolyten nahm bis zu 3 Stunden nach der Fütterung zu, um danach wieder weitgehend auf das Ausgangsniveau abzufallen.

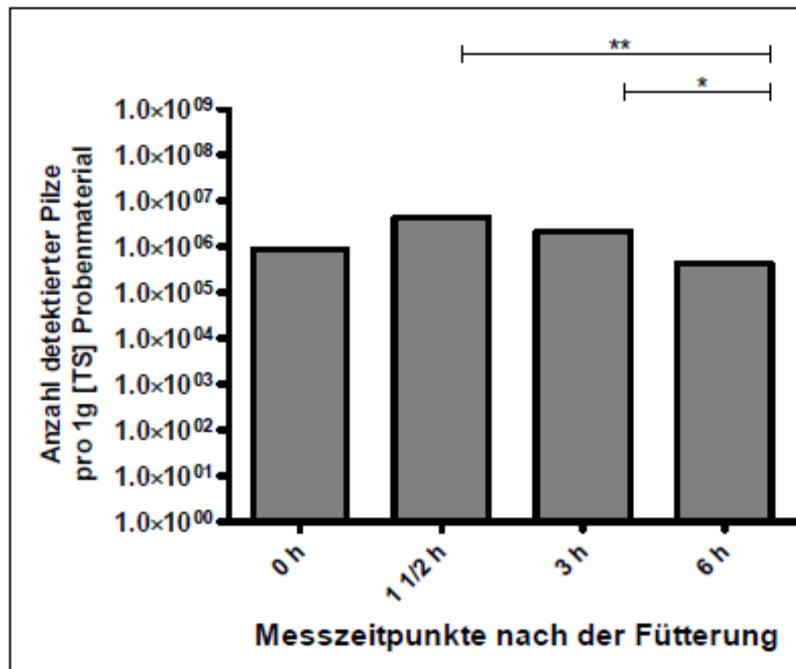


Abbildung 1: Entwicklung der Population an anaeroben Pilzen im Zeitverlauf nach der Fütterung (Anzahl pro g TM; Mittelwert aus Festmaterial und Pansensaft)

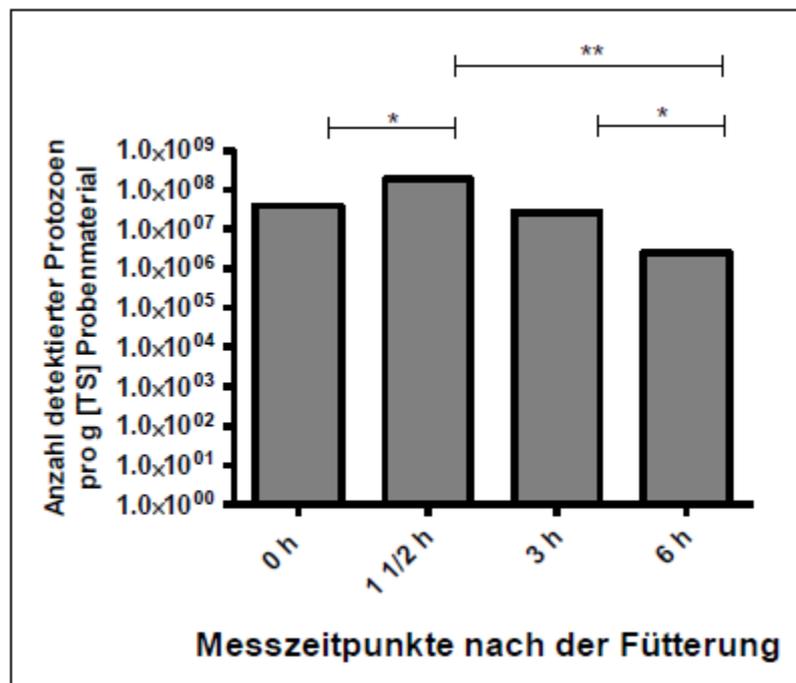


Abbildung 2: Entwicklung der Population an Protozoen im Zeitverlauf nach der Fütterung (Anzahl pro g TM; Mittelwert aus Festmaterial und Pansensaft)

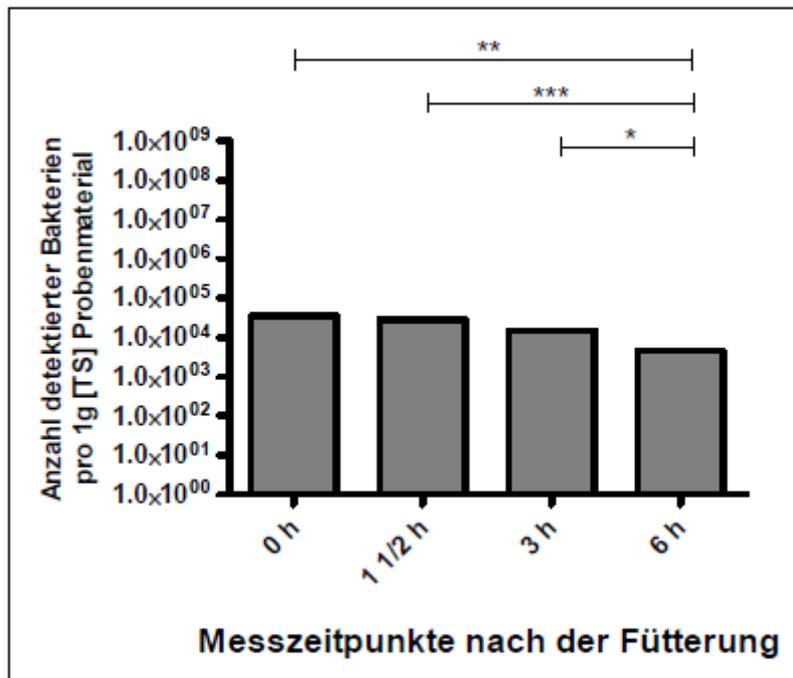


Abbildung 3: Entwicklung der Population an Bakterien (Gesamtsumme) im Zeitverlauf nach der Fütterung (Anzahl pro g TM; Daten nur aus dem Pansensaft)

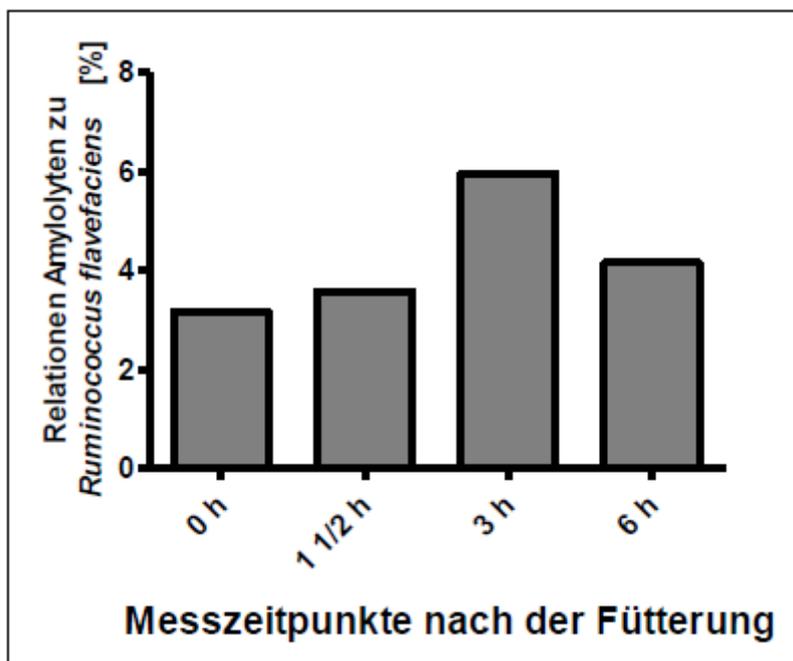


Abbildung 4: Entwicklung der Relation von Amylolyten zu *Ruminococcus flavefaciens* im Zeitverlauf nach der Fütterung (%; Daten aus den Mittelwerten von Festmaterial und Pansensaft)

Diskussion

In der hier vorgestellten Arbeit gelang es, die anaeroben Pilze, die Protozoen, die Gesamtsumme der Bakterien, die amylolytischen Bakterien sowie *Fibrobacter succinogenes* und *Ruminococcus flavefaciens* als Vertreter der Cellulolyten im gefriergetrockneten Material des Pansens mittels qPCR zu quantifizieren. Die mikrobielle DNA-Extraktion aus Pansensaft und Festmaterial wurde bereits in früheren Arbeiten etabliert, in denen man die einzelnen Gruppen von Mikroorganismen allerdings zuvor noch in Kulturmedien vermehrt hatte (Denmann and McSweeney 2006; Boguhn et al. 2010; Sylvester et al. 2004). In der vorliegenden Untersuchung wurde die DNA dagegen direkt extrahiert und gemessen. Die hier gezeigten Daten liefern somit unmittelbare und quantitativ vergleichbare Momentaufnahmen des Pansenmikrobioms zum Zeitpunkt der Probenahme.

Die hier untersuchten Gruppen an ruminalen Mikroorganismen zeigten ein charakteristisches und kohärentes Zeitprofil nach der Morgenfütterung. So stimmt der Anstieg der ruminalen Dichte an Pilzen und Protozoen kurz nach der Fütterung mit früheren Befunden überein (Orpin and Joblin 1997). Pansenpilze sind maßgeblich am ersten Aufschluss von Pflanzenfaser beteiligt und leisten dadurch wesentliche Vorarbeiten für die weitere bakterielle Verdauung dieser Rohrnährstoffkomponente des Futters. In dieses Bild passt auch der Befund, dass die Dichte der Population an Pansenpilzen bis 6 Stunden nach der Fütterung wieder auf das Ausgangsniveau zurückfiel.

Der Abfall der Gesamtsumme an Bakterien im Pansensaft (Abbildung 3) scheint auf den ersten Blick mit dem Anstieg der Protozoen in Verbindung zu stehen (Abbildung 2). Da Bakterien den Protozoen als Nahrungsgrundlage dienen, könnte der Anstieg der Protozoendichte unmittelbar nach der Fütterung das mikrobielle Wachstum insgesamt gebremst haben. Allerdings ließ sich die Gesamtsumme an Bakterien nur im Pansensaft sicher messen, da es im Festmaterial möglicherweise zu Kontaminationen mit DNA aus Futterpflanzen kam. Ein mikrobielles Wachstum unmittelbar nach der Fütterung ist jedoch im Festmaterial des Pansens durchaus zu erwarten (z.B. in Wechselwirkung mit den Pansenpilzen). Darüber hinaus beziehen die Mikroorganismen im Pansensaft einen Großteil ihrer Substrate mit einem gewissen Zeitverzug aus den mikrobiellen Abbautätigkeiten in der Pansenmatte. Dies könnte ein weiterer Grund für das Ausbleiben eines Anstiegs der Bakteriendichte im Pansensaft unmittelbar nach der Fütterung gewesen sein.

Die Dichte an Bakterien in der Trockenmasse des Pansensafts müsste im weiteren Zeitverlauf wieder zum gemessenen Ausgangspunkt zurückkehren. Offenbar erfolgt dies hinter dem letzten Messzeitpunkt der vorliegenden Untersuchung (6 Stunden nach der Fütterung). Dies könnte auch der Zeitraum sein, in dem die Dichte an Protozoen ebenfalls wieder auf ihr Ausgangsniveau steigt.

Die vorliegende Untersuchung konnte darüber hinaus die zeitlich versetzte Entwicklung verschiedener Untergruppen an Bakterien aufzeigen. So nahm das Verhältnis von Amylolyten zu *Ruminococcus flavefaciens* als einer der wichtigsten Vertreter der Cellulolyten bis 3 Stunden nach der Fütterung zu und fiel anschließend wieder ab (Abbildung 4). Dieses Muster passt genau in das bekannte Zeitprofil der Gehalte an Essig- und Propionsäure bzw. der Relation beider flüchtiger Fettsäuren im Pansensaft.

Schlussfolgerung

Insgesamt konnte die vorliegende Pilotstudie durch unmittelbare molekularbiologische Quantifizierung der DNA verschiedener funktioneller Gruppen von Pansenmikroben mittels qPCR ein differenziertes Bild des ruminalen Mikrobioms im Zeitverlauf nach der Fütterung aufzeigen. Die beobachteten Veränderungen waren statistisch gut nachweisbar und ergaben ein in sich kohärentes Bild, das mit früheren mikrobiologischen Untersuchungen auf der Basis von Mikroskopie und kulturellen Techniken sowie mit (bio)chemischen Endpunktmessungen des Pansenstoffwechsels sehr gut übereinstimmt. Die Quantifizierung von mikrobieller DNA mittels qPCR erweist sich demzufolge als ein hochsensibles und schnel-

les Werkzeug, das die Erforschung der funktionellen Zusammenhänge der Pansenfermentation von Wiederkäuern bereichern könnte.

Literatur

- Boghun, J., Neumann, D., Helm, A., Strobel, E., Tebbe, C.C., Danicked, S. and Rodehutschord, M., 2010. Effects of concentrate proportion in the diet with or without Fusarium toxin-contaminated triticale on ruminal fermentation and the structural diversity of rumen microbial communities *in vitro*. Archives of Animal Nutrition Vol. 64, No. 6, December 2010, 467–483
- Denman, S.E. and McSweeney, C.S., 2006. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen. FEMS Microbiol Ecol 58, 572–582
- Jeroch, H., Drochner, W., Simon, O., 2008. Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. Eugen Ulmer Verlag Stuttgart, 2. Auflage, S.119
- Klieve, A.V., Hennessy, D., Ouwerkerk, D., Forster, R.J., Mackie R.I. and Attwood G.T., 2003. Establishing populations of *Megasphaera elsdenii* YE 34 and *Butyrivibrio fibrisolvens* YE 44 in the rumen of cattle fed high grain diets. J Appl Microbiol 95: 621-630
- Mackie R.I., 1997. Gut environment and evolution of mutualistic fermentative digestion. Gastrointestinal Microbiology, Vol. I (Mackie R.I. and White B.A., eds), pp. 13-35. Chapman & Hall, New York.
- Michalet-Doreau, B., Fernandez, I. and Fonty, G., 2002. A compared ison of enzymatic and molecular approaches to characterize the cellulolytic microbial ecosystem of the rumen and the cecum. Journal of Animal Science, vol 80, no.3, pp. 790-796
- Orpin, C.G. and Jonlin, K.N., 1997. The rumen anaerobic fungi. The Rumen Microbial Ecosystem (Hobson PN & Stewart CS, eds), pp. 140-195. Elsevier, London
- Ouwerkerk, D., Klieve A.V. and Forster R.J., 2002. Enumeration of *Megasphaera elsdenii* in rumen contents by real-time Taq nuclease assay. J Appl Microbiol 92: 753-758
- Tajima, K., Aminov, R.I., Nagamine, T., Matsui, H., Nakamura, M. and Benno, Y., 2001. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. Appl Environ Microbiol 67: 2766-2774.
- Sylvester, J.T., Karnati, S.K., Yu, Z., Morrison, M. and Firkins, J.L., 2004. Development of an assay to quantify rumen ciliate protozoal biomass in cows using real-time PCR. J Nutr 134: 3378-3384.
- Yu, Z. and Morrison, M., 2004. Comparisons of different hypervariable regions of rrs genes for use in fingerprinting of microbial communities by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. Applied and Environmental Microbiology, vol. 76, no. 6, pp. 1887-1894.

Autorenanschrift

Carmen Fahn
Lehrstuhl für Tierernährung
WZW Weihenstephan, TU München
Liesel-Beckmann-Straße 6; D-85354 Freising (Weihenstephan)
E-Mail: carmen.fahn@wzw.tum.de

Autorenverzeichnis

Aichner, V. S.	48	Doležal, P.	121, 187, 206
Al-Wahab, A.-A.	152	Doppelreiter, F.	44
Amonthewaphat, N.	243	Dussert, L.	201
Anke, M.	146	Elwert, C.	118
Arnhold, W.	146, 157	Ettle, T.	48, 53
Auerbach, H.	179	Fahn, C.	1, 317
Awad, W. A.	288, 295	Fischbacher, E.	111
Baarslag, L.	175	Formelová, Z.	95
Bartelt, J.	65	Fröhdeová, M.	121, 206, 269, 299
Bartiene, E.	192	Frydrychová, S.	217
Benzoni, G.	213	Ganner, A.	196
Berthiller, F.	304	Gasteiner, J.	28, 167
Binder, K.	99	Geist, J.	111
Blässe, A.-K.	228	Ghareeb, K.	288, 295
Bliznikas, S.	135	Göbel, S.	146, 157
Böhm, J.	288, 295	Goerke, M.	210
Boonekamp, R.	175	Grausgruber, H.	99
Bosse, A.	108	Gruber, E.	310
Bravo, D.	223	Gruzauskas, R.	135
Brestenský, M.	126	Haidle, L.	164
Brugger, D.	1, 83	Heger, J.	126
Buckiuniene, V.	135	Helmbrecht, A.	88
Buffler, M.	1	Hess, M.	288
Chevaux, E.	201	Hobegger, M.	141
Chrastinová, L.	95	Holl, E.	228, 253
Chrenková, M.	90, 95	Hrbek, J.	187
Coquil, D.	213	Humer, E.	8
Corrent, E.	65	Jankowski, J.	88
de Ondarza, M. B.	201	Jelinek, A.	99
Deckardt, K.	99	Jerešiūnas, A.	237
Deml, M.	1	Jerešiūnienė, O.	237
Dohnal, I.	196	Jeroch, H.	19, 88

Jungbauer, L.	233	Menn, F.	273
Juodeikiene, G.	192	Mlejnková, V.	121, 187, 206, 269, 299
Kalhotka, L.	121, 187	Morel, A.	213
Kamphues, J.	152	Müller, A.	152
Khol-Parisini, A.	99	Müller, S.	157
Kirwan, S.	253	Nadeau, E.	179
Kliseviciute, V.	135	Nadler, C.	83
Knorr, J.	27	Nagl, V.	304, 310
Kozłowski, K.	88	Neues, B.	157
Kraler, M.	8	Neufeld, N.	167
Kreuzer, M.	99	Nitrayová, S.	126
Krobot, R.	206, 269, 299	Noblet, J.	13
Kroismayr, A.	167, 175	Nollet, L.	164
Krska, R.	304	Obermaier, A.	53
Kühn, I.	243, 257	Oguey, C.	223
Laurent, J.-M.	213	Ondruška, Ľ.	95
Laustsen, P.	164	Opletal, L.	217
Le Ray, M.-L.	213	Parkányi, V.	95
Lederer, E.	317	Partanen, K.	257
Lei, Q.	262	Patráš, P.	126
Leidinger, E.	167	Pfeffer, M.	248
Lindermayer, H.	72, 77, 104	Philipps, P.	243, 257
Lindner, G.	59	Pirgozliev, V.	223
Lipenský, J.	217	Poláčiková, M.	95
Lopez-Brea, F. F.	132	Pomykalová, S.	95
Ludwig, P.	167	Preißinger, W.	77, 104
Lukešová, K.	121, 206, 269, 299	Přichystalová, J.	121
Lustysková, A.	217	Propstmeier, G.	72, 77
Mader, E.	248	Raceviciute-Stupeliene, A.	135
Mair, C.	304, 310	Radko, D.	152
Männer, K.	228	Ragazinskiene, O.	192
Maruska, A.	192	Rajský, M.	90
Matusevicius, P.	192	Rapp, C.	132
McNamara, J. P.	279	Reichel, C.	196

Richter, G.	157	Szwedziak, K.	187
Rose, P.	223	Tamašauskienė, D.	237
Rose, S.	196	Theobald, P.	179
Roth, N.	262	Thomson, J.	279
Rozkot, M.	217	Tukiendorf, M.	187
Rutzmoser, K.	104	Urbaityte, R.	262
Sager, M.	141	Václavková, E.	217
Schad, W.	157	Vahjen, W.	228
Schäffler, M.	72, 104	van Enckevort, A.	175
Schatzmayr, G.	196, 248	Varga, E.	304
Schauerhuber, C.	248	Vodnansky, M.	90
Schedle, K.	8, 59, 65	von Heimendahl, E.	273, 279
Schieder, C.	167	Walker, N.	201
Scholz, H.	273	Weidong, S.	262
Schulte-Sutrum, R.	283	Weiss, K.	179
Schwarz, H.	304	Wendler, K. R.	210, 233
Seifert, M.	146	Werner, J.	99
Skabeikyte, E.	192	Windisch, W.	1, 48, 83, 111, 317
Slavik, V.	304	Wintersteiger, K.	65
Sniffen, C. J.	201	Yan, X.	262
Stalljohann, G.	283	Zebeli, Q.	99
Steen, P.	243	Zeitz, J. O.	34
Stöger, D.	99	Zeman, L.	187, 269, 299
Stoiber, C.	196	Zentek, J.	288
Sullivan, J.	201	Zollitsch, W.	167
Svirmickas, G.	135		

Sponsoren

Wir danken folgenden Firmen für ihre großzügige Unterstützung:

Alphabetische Reihenfolge



AB Vista
3 Woodstock Court, Blenheim
Road, Marlborough Business
Park, Marlborough
Wiltshire, SN8 4AN, UK



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

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



Pancosma S.A.
Voie-des-Traz 6
CH-1218 Le Grand-Saconnex



Pulte GmbH & Co. KG
Südstraße 7
D-83253 Rimsting

Reisenberger GmbH

Reisenberger GmbH
Stuttgarterstraße 2
A-2380 Perchtoldsdorf



H. Willhelm Schaumann GmbH
& Co. KG
Jakob-Fuchs-Gasse 25-27
A-2345 Brunn am Gebirge



Zinpro Performance Minerals™
Akkerdistel 2^E
NL-5831 PJ Boxmeer
