

Department für Nutztierwissenschaften
Abteilung Tierernährungsphysiologie
der
Georg-August-Universität Göttingen

**Ernährungsphysiologische Bewertung von *Spirulina platensis* für den
Einsatz in nachhaltig ressourcenschonenden Ernährungskonzepten der
Schweine- und Hähnchenmast**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Agrarwissenschaften
der Georg-August-Universität in Göttingen

vorgelegt von

Carmen Neumann

geboren in Tübingen

Göttingen, September 2018

D7

1. Gutachter: Prof. Dr. Frank Liebert
2. Gutachter: Prof. Dr. Elke Pawelzik
3. Gutachter: Prof. Dr. Ludwig Theuvsen

Abgabetermin: 03. September 2018

Tag der mündlichen Prüfung: 05. November 2018

Meinen Eltern

Felizitas & Rolf

Meinem Bruder

Nikolai

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis	VII
Tabellenanhangsverzeichnis.....	VIII
Abkürzungsverzeichnis	IX
Zusammenfassung	XI
Summary	XIII
1 Einleitung	1
2 Zielstellung.....	3
3 Literaturübersicht	4
3.1 Biologie der Mikroalge <i>Spirulina platensis</i>	4
3.2 Vorkommen und Kultivierung von <i>Spirulina platensis</i>	5
3.3 Verwendungsmöglichkeiten von <i>Spirulina platensis</i>	9
3.4 Ernährungsphysiologische Eigenschaften von <i>Spirulina platensis</i>	11
3.5 Algenmehle von Spirulina in der Tierernährung.....	19
3.5.1 Futtermittelrechtliche Regelungen	20
3.5.2 Geflügelmast	20
3.5.3 Schweinemast.....	27
4 Material und Methoden	32
4.1 Versuchsaufbau	32
4.1.1 Broiler.....	33
4.1.1.1 Wachstumsversuche Broiler.....	34
4.1.1.2 N-Bilanzmessungen Broiler	37
4.1.2 Ferkel und Mastschweine.....	38
4.1.2.1 Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine	39
4.1.2.2 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine	42
4.2 Charakterisierung der Proteinquellen.....	42

4.3 Tiere, Tierhaltung und Versuchsdurchführung	43
4.3.1 Broiler.....	43
4.3.1.1 Wachstumsversuche Broiler.....	44
4.3.1.2 N-Bilanzmessungen Broiler	44
4.3.2 Ferkel und Mastschweine.....	45
4.3.2.1 Wachstumsversuche Ferkel.....	45
4.3.2.2 Wachstumsversuche Mastschweine	45
4.3.2.3 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine	46
4.4 Fütterung und Versuchsdiäten.....	46
4.4.1 Fütterung	47
4.4.1.1 Fütterung Broiler.....	47
4.4.1.1.1 Wachstumsversuche Broiler.....	47
4.4.1.1.2 N-Bilanzmessungen Broiler	47
4.4.1.2 Fütterung Ferkel und Mastschweine	48
4.4.1.2.1 Wachstumsversuche Ferkel.....	48
4.4.1.2.2 Wachstumsversuche Mastschweine	49
4.4.1.2.3 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine	49
4.4.2 Versuchsdiäten	49
4.4.2.1 Broiler.....	49
4.4.2.1.1 Versorgungsempfehlungen.....	49
4.4.2.1.2 Versuchsdiäten Wachstum Broiler.....	50
4.4.2.1.3 Versuchsdiäten N-Bilanz Broiler	53
4.4.2.2 Ferkel und Mastschweine	54
4.4.2.2.1 Versorgungsempfehlungen.....	54
4.4.2.2.2 Versuchsdiäten Wachstum Ferkel und Mastschweine	56
4.4.2.2.3 Versuchsdiäten N-Bilanz Ferkel und Mastschweine	58
4.5 Erfassung zootechnischer Parameter.....	58
4.6 Ganzkörperanalyse - Wachstumsversuche Broiler.....	60

4.7 N-Ansatz.....	61
4.8 Proteinqualitätsparameter	62
4.9 Göttinger N-Verwertungsmodell.....	63
4.10 Bestimmung der Verdaulichkeit.....	65
4.11 Durchführung der chemischen Analysen	66
4.12 Statistische Auswertung	69
5 Ergebnisse	70
5.1 Wachstumsversuche Broiler.....	70
5.1.1 Zootechnische Parameter	70
5.1.2 Protein- und Energieaufwand sowie Parameter der Protein- und Energieverwertung	73
5.1.3 Ganzkörperzusammensetzung und Ansatzparameter.....	78
5.1.4 Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit	83
5.2 N-Bilanzmessungen Broiler	85
5.2.1 Bilanzversuch 1	85
5.2.2 Bilanzversuch 2	87
5.3 Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine	92
5.3.1 Zootechnische Parameter und Aufwandsparameter Ferkel.....	92
5.3.2 Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit Ferkel.....	94
5.3.3 Zootechnische Parameter und Aufwandsparameter Mastschweine (25-75 kg)	96
5.4 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine	98
6 Diskussion	101
6.1 Wachstumsversuche Broiler.....	101
6.2 N-Bilanzmessungen Broiler	114
6.3 Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine	117
6.4 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine	121
6.5 Übergreifende Diskussion	124
7 Schlussfolgerungen	130

8 Ausblick und weitere Forschungsansätze	131
9 Literaturverzeichnis	132
10 Wissenschaftliche Publikationen und Beiträge zu wissenschaftlichen Tagungen	150
11 Lebenslauf	155
12 Tabellenanhang	157
13 Anhang Publikationen	165
13.1 Publikation 1	165
13.2 Publikation 2	181
13.3 Publikation 3	203
14 Danksagung	218

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Aminosäurezusammensetzung von <i>Spirulina platensis</i>	12
Tabelle 2: Fettsäurezusammensetzung von <i>Spirulina platensis</i>	14
Tabelle 3: Vitamine in <i>Spirulina platensis</i>	16
Tabelle 4: Gehalte an Mengen- und Spurenelementen in Algenmehl von <i>Spirulina</i>	17
Tabelle 5: Gehalte an potenziell toxischen Mineralstoffen (nach Falquet und Hurni, 2006) ..	18
Tabelle 6: Pigmente in <i>Spirulina</i> (nach Shimamatsu, 2004)	19
Tabelle 7: Übersicht zu Versuchen mit <i>Spirulina</i> in Geflügelmischungen	21
Tabelle 8: Übersicht zu Versuchen mit <i>Spirulina</i> in Schweinemischungen	28
Tabelle 9: Ausgewählte Angaben zu den durchgeführten Versuchen an Masthähnchen	33
Tabelle 10: Übersicht Wachstumsversuche Broiler	35
Tabelle 11: Übersicht N-Bilanzversuche Broiler	37
Tabelle 12: Ausgewählte Angaben zu den durchgeführten Versuchen an Ferkeln und Mastschweinen	38
Tabelle 13: Übersicht Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine	40
Tabelle 14: Übersicht N-Bilanzversuche Ferkel und Mastschweine	42
Tabelle 15: Analysergebnisse der Proteinquellen	43
Tabelle 16: Zielgrößen für die Gehalte an XP, Energie, Na, Ca und P in den Diäten (nach Pastor, 2014).....	50
Tabelle 17: Annahmen für das IAAR für Masthähnchen in der Starter- und Growerphase (Wecke und Liebert, 2013)	50
Tabelle 18: Versorgungsempfehlungen Ferkel	55
Tabelle 19: Versorgungsempfehlungen Mastschweine.....	56
Tabelle 20: Zootecnische Parameter der Broiler in der Starter- und Growerphase der Wachstumsversuche 1-3.....	71
Tabelle 21: Protein- und Energieaufwand in den Versuchsabschnitten der Wachstumsversuche 1-3.....	74
Tabelle 22: Parameter der Protein- und Energieverwertung (Gesamtperiode) in den Wachstumsversuchen 1-3	76
Tabelle 23: Rohasche- und Bruttoenergieansatz der Broiler in den Wachstumsversuchen 1-3	82
Tabelle 24: Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit Broiler (Wachstumsversuche 1-3)	83

Tabelle 25: Ergebnisse der N-Bilanzmessungen in der Starterperiode des Bilanzversuches 2	87
Tabelle 26: Abgeleitete N-Verwertungskennzahlen in der Starterperiode des Bilanzversuches 2	88
Tabelle 27: Ergebnisse der N-Bilanzmessungen in der Growerperiode des Bilanzversuches 2	90
Tabelle 28: Abgeleitete N-Verwertungskennzahlen in der Growerperiode (Bilanzversuch 2)	91
Tabelle 29: Zootechnische Parameter und Aufwandskennzahlen der Ferkel in Wachstumsversuch 1 und 2	93
Tabelle 30: Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit Ferkel (Wachstumsversuch 1 und 2)	95
Tabelle 31: Zootechnische Parameter und Aufwandskennzahlen der Mastschweine in Wachstumsversuch 1 und 2	96
Tabelle 32: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Startermischungen der Wachstumsexperimente 1-3	103
Tabelle 33: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Growermischungen der Wachstumsexperimente 1-3	104
Tabelle 34: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen des N-Bilanzversuches 1	115
Tabelle 35: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen des N-Bilanzversuches 2	116
Tabelle 36: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen der Ferkelwachstumsversuche 1 und 2	117
Tabelle 37: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen der Schweinewachstumsversuche 1 und 2	121
Tabelle 38: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen des N-Bilanzversuches 1 der Ferkel und Mastschweine	122

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Struktur der <i>Spirulina platensis</i>	5
Abbildung 2: Wachstumsansprüche von <i>Spirulina platensis</i>	6
Abbildung 3: Produktionsprozess von <i>Spirulina platensis</i>	8
Abbildung 4: Produktionssysteme von <i>Spirulina platensis</i>	9
Abbildung 5: Nutzung von <i>Spirulina platensis</i> (verändert nach Bippes et al., 2016).....	10
Abbildung 6: Kombinierte N-Bilanz- und Wachstumsversuche.....	33
Abbildung 7: Kombinierte N-Bilanz- und Wachstumsversuche.....	38
Abbildung 8: Endlebensmasse (Gesamtperiode) Wachstumsversuche 1-3.....	72
Abbildung 9: Futteraufwand (Gesamtperiode) Wachstumsversuche 1-3	73
Abbildung 10: Ergebniszusammenfassung zu NPU_{std} Wachstumsversuche 1-3	77
Abbildung 11: Ganzkörperzusammensetzung an Rohprotein (XP) Wachstumsversuche 1-3	78
Abbildung 12: Ganzkörperzusammensetzung an Rohfett (XL) Wachstumsversuche 1-3	79
Abbildung 13: Rohproteinansatz der Broiler in den Wachstumsversuchen 1-3	80
Abbildung 14: Rohfettansatz der Broiler in den Wachstumsversuchen 1-3	81
Abbildung 15: Mittlere Ergebnisse der N-Bilanzmessungen (Starter und Grower) des Bilanzversuches 1	85
Abbildung 16: Mittlere Ergebnisse der Proteinqualitätsbewertung über NPU_{std} (Starter und Grower) des N-Bilanzversuches 1	86
Abbildung 17: Mittlere Ergebnisse der Proteinqualitätsbewertung über NPU_{std} (Starter) des N-Bilanzversuches 2	89
Abbildung 18: Mittlere Ergebnisse der Proteinqualitätsbewertung über NPU_{std} (Grower) in Bilanzversuch 2	92
Abbildung 19: Mittlere Endlebensmasse (kg) und Futteraufwand (g/g) der Mastschweine in Abhängigkeit vom SES-Austausch (Wachstumsversuch 1 und 2).....	97
Abbildung 20: Mittlere N-Bilanz-Ergebnisse (Versuch 1, Ferkel und Mastschweine)	98
Abbildung 21: Mittlere Ergebnisse der Proteinqualitätsbewertung über NPU_{std} (Versuch 1, Ferkel und Mastschweine)	99
Abbildung 22: Scheinbare N-Verdaulichkeit (Versuch 1, Ferkel und Mastschweine).....	100
Abbildung 23: Vergleich der AS-Gehalte (gAS/16gN) von Sojaprotein und Spirulinaprotein	126

Tabellenanhangsverzeichnis

Tabellenanhang 1: Versuchsdiäten Broiler Wachstumsversuch 1.....	157
Tabellenanhang 2: Versuchsdiäten Broiler Wachstumsversuch 2.....	158
Tabellenanhang 3: Versuchsdiäten Broiler Wachstumsversuch 3.....	159
Tabellenanhang 4: Versuchsdiäten Broiler N-Bilanzversuch 1.....	160
Tabellenanhang 5: Versuchsdiäten Broiler N-Bilanzversuch 2.....	161
Tabellenanhang 6: Versuchsdiäten Ferkel und Mastschweine Wachstumsversuch 1 (11-120 kg LM).....	162
Tabellenanhang 7: Versuchsdiäten Ferkel und Mastschweine Wachstumsversuch 2 (11-120 kg LM).....	163
Tabellenanhang 8: Versuchsdiäten Ferkel und Mastschweine N-Bilanzversuch 1 (25 und 60 kg LM).....	164

Abkürzungsverzeichnis

Neben den üblichen Abkürzungen des Dudens (Die deutsche Rechtschreibung, 27. Auflage, Dudenverlag 2017), den üblichen Abkürzungen und Einheiten des internationalen Einheitensystems sowie den Symbolen für chemische Elemente und Verbindungen werden folgende Abkürzungen verwendet:

Ala	Alanin
AME _N	N korrigierte umsetzbare Energie, engl.: metabolisable energy corrected for nitrogen
Arg	Arginin
AS	Aminosäure
Asp	Asparaginsäure
b	Proteinqualitätsparameter (Göttinger Modell)
Cys	Cystein
FA	Futtermaterial
FS	Frischsubstanz
FI	Futtermaterialaufnahme, engl.: feed intake
GE	Bruttoenergie, engl.: gross energy
GK	Ganzkörper
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
His	Histidin
HM	Hermetiamehl
IAAR	ideales Aminosäurenverhältnis, engl.: ideal amino acid ratio
Ile	Isoleucin
LAS	limitierende Aminosäure
Leu	Leucin
LM	Lebendmasse
LM _{kg} ^{0,67}	metabolische Lebendmasse
LMZ	Lebendmassezunahme
LT	Lebensdauer
Lys	Lysin
ME	umsetzbare Energie, engl.: metabolisable energy
Met	Methionin
NfE	Stickstoff-freie-Extraktstoffe

NMR	N-Erhaltungsbedarf, engl.: N maintenance requirement
NPN	Nicht-Protein-Stickstoff
NPU	physiologischer Proteinnutzwert, engl.: net protein utilization
NPU _{std}	standardisierter physiologischer Proteinnutzwert
NR _{max} T	theoretisches Maximum der N-Retention, engl.: theoretical maximum for N retention
pcV	praecaecale Verdaulichkeit
Phe	Phenylalanin
PPW	Produktiver Protein- (Eiweiß-) wert
Pro	Prolin
SAS	schwefelhaltige Aminosäuren
SD	Standardabweichung, engl.: standard deviation
Ser	Serin
SES	Sojaextraktionsschrot
SM	Spirulinamehl (getrocknetes Endprodukt)
spcV	scheinbare praecaecale Verdaulichkeit
Thr	Threonin
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
TS	Trockensubstanz
Val	Valin
XA	Rohasche
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein

Zusammenfassung

Ernährungsphysiologische Bewertung von *Spirulina platensis* für den Einsatz in nachhaltig ressourcenschonenden Ernährungskonzepten der Schweine- und Hähnchenmast

Das traditionell eingesetzte Sojaextraktionsschrot (SES) dient mit relativ günstiger Aminosäurezusammensetzung als Hauptproteinquelle in der Ernährung von Schwein und Geflügel. Aufgrund der ansteigenden Weltbevölkerung und der damit verbundenen Konkurrenzsituation zur Humanernährung sowie der Verknappung der landwirtschaftlichen Nutzflächen können alternative Proteinquellen wie Algenmehle an Bedeutung in der Tierernährung gewinnen. Fragen nach den Substitutionsmöglichkeiten von SES als Proteinquelle durch Mikroalgenmehl von *Spirulina platensis* (SM) wurden im Rahmen des vom Niedersächsischen Ministerium für Wissenschaft und Kultur (MWK) geförderten Projektes „Sustainability Transitions: Alternative Proteinquellen in sozio-technischer Perspektive“ bearbeitet und insbesondere die Voraussetzungen für hohe Anteile an Mikroalgenmehl im Futter von Masthähnchen und Schweinen erforscht. Hierzu wurden Wachstums- und N-Bilanzversuche mit Ferkeln, Mastschweinen und Masthähnchen durchgeführt. Ziel war es, den Proteinträger SES zu 50 %, 75 % und 100 % durch SM bei unterschiedlichem Ergänzungsniveau durch kristalline Aminosäuren (AS) zu ersetzen. Die Effekte wurden durch die Bewertung der Akzeptanz der Futtermischungen, der zootechnischen Parameter, der Ganzkörperanalysen (Masthähnchen), der Verdaulichkeitsuntersuchungen und der Proteinqualität der Futtermischungen auf Grundlage des Göttinger N-Verwertungsmodells evaluiert. Bei den Masthähnchen (Ross 308) gelang der 50 – 100 %-ige Austausch von SES durch das Mikroalgenmehl ohne signifikante Verschlechterung von Wachstum und Futteraufwand, sofern ein an das ideale AS-Verhältnis angelehnter AS-Ausgleich (Lys, Met, Arg, Thr, His) vorgenommen wurde. Blieb die AS-Supplementation auf gleichem Niveau wie in der Kontrolle mit SES oder wurde die kalkulatorisch erstlimitierende AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt, kam es zu signifikant schlechteren Wachstumsparametern. Der Rohproteinansatz (XP-Ansatz) der Broiler, die mit SM und einer adäquaten AS-Supplementierung gefüttert wurden, war im Vergleich zur Kontrolle geringer. Die praecaecale Rohproteinverdaulichkeit (XP-Verdaulichkeit) war bei einer Substitution von 50 % bzw. 75 % signifikant geringer im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei einer Austauschrate von 100 % SES traten keine Unterschiede in der praecaecalen XP-Verdaulichkeit auf. Ebenso zeigten sich Grenzen für eine 100 %-ige Substitution von SES durch SM auf Ebene der Proteinqualität. Die Ergebnisse

aus N-Bilanzversuchen und Wachstumsversuchen zeigten, dass die aktuell vorgenommenen AS-Ergänzungen noch keine zur Kontrolle adäquate Proteinqualität erzielen konnten. Bei Ferkeln [PIC 408 x (Large White x Landrace)] zeigten sich bei Einhaltung optimaler AS-Relationen im Futter keine signifikanten Veränderungen der zootechnischen Parameter. Diese Beobachtung konnte sowohl bei 50 %-iger als auch bei 75 %-iger Substitution des SES durch das verwendete Mikroalgenmehl beobachtet werden. Erfolgte kein adäquater AS-Ausgleich (50 % und 75 % Substitution von SES), waren tendenziell bzw. signifikant schlechtere zootechnische Ergebnisse festzustellen. Durch parallele Untersuchungen zur praecaecalen XP-Verdaulichkeit (Schlactmethode) bei 50 %-iger bzw. 75 %-iger Substitution von SES war diese Beobachtung nicht zu erkennen. Mit einem Teil der Ferkel erfolgten Untersuchungen bis in den Mastbereich. Dabei wiesen die Mastschweine bis zum Erreichen von 75 kg Lebendmasse mit 50 % bzw. 75 % Austausch von SES durch SM in der Mischung bei ausgewogenem AS-Ausgleich keine signifikanten Abweichungen der zootechnischen Parameter im Vergleich zur Kontrolle auf. Die Ergebnisse aus N-Bilanzversuchen (Ferkel und Mastschweine) bei einem Austauschniveau von 100 % SES bestätigten, dass durch eine adäquate AS-Supplementierung (Lys, Met, Thr, His) die Proteinqualität gesteigert werden konnte. Aus ernährungsphysiologischer Sicht eignet sich *Spirulina platensis* somit als Proteinquelle in der Masthähnchen- und Schweinefütterung, sofern eine adäquate AS-Ergänzung gesichert ist. Um *Spirulina platensis* als alternative Proteinquelle zu generieren, muss allerdings eine wirtschaftlich relevante Erzeugung eines standardisierten, qualitätsstabilen Produktes entwickelt werden. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die Potenziale dieser Proteinquellen durch AS-Ergänzungen noch besser auszuschöpfen. Weiterhin sind für eine noch umfassendere ernährungsphysiologische Bewertung Untersuchungen zur Variabilität der Wirksamkeit einzelner Aminosäuren in den alternativen Proteinträgern erforderlich.

Summary

The nutritional-physiological evaluation of *Spirulina platensis* in sustainable resource-saving nutritional concepts for fattening pigs and chickens

To date, the traditionally used soybean meal (SBM), with a relatively favorable amino acid composition, serves as the main protein source in the diets of pig and poultry. However, due to the increasing world population, the subsequent competition to support human nutrition, coupled with a shortage of agricultural land, alternative protein sources such as algae meal can gain importance for animal nutrition. As a part of the multidisciplinary project "Sustainability Transitions in the Food Chain" (supported by the Lower Saxony Ministry for Science and Culture), the objective of this research focuses on replacing SBM at different inclusion levels of blue-green microalgae *Spirulina platensis* (SM) in broiler and pig diets. To this end, growth and N-balance experiments with piglets, fattening pigs and broilers were carried out, while replacing the protein source SBM with 50 %, 75 % and 100 % with SM at different levels of crystalline amino acids (AA) supplementation. The effects were evaluated by assessing the acceptability of feed mixtures, zoo-technical parameters, whole body analyzes (broilers only), digestibility studies and protein quality parameters of feed mixtures based on the "Goettingen approach". In the case of broilers (Ross 308), a 50 - 100 % replacement of SBM by SM was achieved without significant deterioration in growth and feed conversion ratios, when the dietary AA balance was adapted to the ideal AA-ratio (IAAR) recommendations through an enlarged range of supplemented feed AAs (Lys, Met, Arg, Thr, His). If the AA supplementation remained at the same level as in the control with SBM or if the calculated first limiting AA was reduced to 80 % of its recommendation, significantly deteriorated growth parameters were observed. The crude protein digestibility (XP digestibility) of broilers fed with SM and an adequate AA supplementation in diets was lower compared to the control. The precaecal crude protein digestibility (XP digestibility) was significantly lower with a substitution of 50 % and 75 % compared to the control group. At a replacement rate of 100 % SBM, there were no differences in precaecal XP digestibility, yet limits in protein quality were determined where 100 % SBM was substituted by SM. The results of N-balance studies and growth experiments show that the current AA supplementation could not achieve adequate protein quality in comparison to the control diet. In piglets [PIC 408 x (Large White x Landrace)], no significant changes in the zoo-technical parameters were observed if the optimum AA ratios were maintained in the feed. This effect was observed with both 50 % and 75 % substitution of the SBM by the microalgae meal used.

In the absence of adequate AA compensation (50 % and 75 % substitution of SES), zoo-technical results tended to be numerically or significantly worse. However, parallel studies on precaecal XP digestibility (slaughter method) with 50 % and 75 % substitution of SBM did not reveal this observation. Investigations were then carried out into the fattening stage; where fattening pigs showed no significant deviations in the zoo-technical parameters compared to the control until they reached 75 kg of body mass with 50 % or 75 % replacement of SBM by SM in the diets with an extended AA supplementation. The results from N-balance studies (piglets and growing pigs) at an exchange level of 100 % SES confirm that the protein quality can be increased by an adequately enlarged AA supplementation (Lys, Met, Thr, His). From a nutritional point of view, *Spirulina platensis* is thus a suitable source of protein in broiler and pig feeding, provided that an adequate AA supplementation is ensured. Nevertheless, in order to generate *Spirulina platensis* as an alternative protein source, an economically relevant production of a standardized, quality-stable product must be developed. More research is needed to better exploit the potential of these protein sources through AA supplements. Furthermore, studies on the variability of the efficiency of individual amino acids in the alternative protein source are required for an even more comprehensive nutritional evaluation.

1 Einleitung

Traditionell wird das Sojaextraktionsschrot (SES) als Hauptproteinquelle in Futtermischungen für Geflügel und Schweine eingesetzt. Der Grund hierfür ist ein stabiles Produkt, das über Jahrzehnte züchterisch etabliert wurde und eine gute Aminosäurezusammensetzung aufweist. Die Stabilität der Qualität sowie ein erschwinglicher Preis machen SES zu einem häufig eingesetzten Futtermittel. Soja ist zunehmend ein grundlegender Bestandteil der Humanernährung und steht damit in Konkurrenz zur Nutzung des SES als Futtermittel für Nutztiere. Die Weltbevölkerung wird sich nach Einschätzung der FAO (2009) bis zum Jahr 2050 auf 9,7 Milliarden Menschen erhöhen. Dieser Anstieg wird vor allem in den Entwicklungsländern geschehen und führt zu einem Mehrbedarf an Nahrungsmitteln von 70 %.

Die weltweite Fleischproduktion soll Schätzungen zufolge von 320 Millionen Tonnen im Jahr 2016 auf 360 Millionen Tonnen im Jahr 2025 wachsen (DBV, 2016). Der erwartete Zuwachs für Schweinefleisch in diesem Zeitraum liegt bei +12 % und Geflügelfleisch bei +19 %. Im Jahr 2025 soll Schweinefleisch einen Marktanteil von 36 % und Geflügelfleisch einen Marktanteil von 37 % der weltweiten Fleischproduktion ausmachen. Um der Produktion an tierischem Protein nachzukommen, wird der Bedarf an Futterprotein parallel ansteigen (FAO, 2004). Die zunehmende Nachfrage nach Nahrungsmitteln, die sich aus der Weltbevölkerung und dem Fleischkonsum ergibt (FAO, 2013), wird laut Fischer et al. (2014) zu einem Anstieg der Sojaproduktion von heute 217 Millionen Tonnen auf 390 Millionen Tonnen im Jahr 2050 führen.

Um eine bedarfsgerechte Eiweißversorgung für die Tierhaltung in Europa zu gewährleisten, wurden in den letzten Jahrzehnten verstärkt Sojaprodukte aus Brasilien, Argentinien und den USA importiert (Taelman et al., 2015; Veldkamp und Bosch, 2015), wo hauptsächlich genetisch verändertes Soja angebaut wird (Stockinger und Schätzl, 2012). In Deutschland werden pro Jahr 1,5 Millionen Tonnen Rohprotein erzeugt, allerdings werden 3,9 Millionen Tonnen Rohprotein an Nutztiere verfüttert. Dies führt zu einer Eiweißlücke von 2,4 Millionen Tonnen Rohprotein (Stockinger und Schätzl, 2012). Grund für die geringe Produktion von Eiweißpflanzen in europäischen Ländern ist ein Handelsabkommen mit den USA. Dieses Abkommen half der EU, seine Getreideproduktion zu schützen und erlaubte im Gegenzug steuerfreie Importe von Proteinpflanzen (Smith und Barnes, 2015). Die Eiweißlücke in Europa entspricht etwa einer Menge an SES von 5 Millionen Tonnen. Zur Schließung dieser, ohne auf Importe angewiesen zu sein, bedürfte es der Nutzung von 1/5 der

Gesamtanbaufläche für die Eiweißpflanzenproduktion z.B. von Körnerleguminosen. Dies würde im Gegenzug zu einem Mangel an Getreide etc. führen (Stockinger und Schätzl, 2012).

Durch die Verknappung der landwirtschaftlichen Nutzflächen durch industrielle und private Verbauung sowie die Konkurrenz des Sojas zur Humanernährung können alternative Proteinquellen wie Algenmehle an Bedeutung in der Tierernährung gewinnen und zur Schließung der Eiweißlücke beitragen. Die größte Herausforderung ist hierbei, eine alternative Proteinquelle zu generieren, die den Ansprüchen bezüglich der Nährstoffzusammensetzung, des Proteingehaltes und der Aminosäuren-Zusammensetzung gerecht wird.

Vorteile der Produktion von Mikroalgenmehlen sind die möglichen effizienten Produktionsraten sowie ein minimaler Süßwasserverbrauch und die geringen Treibhausgasemissionen. Außerdem ist ein zu den Landpflanzen relativ geringer Bedarf an fruchtbarem Land nötig (FAO, 2010, 2013). Algenproteine wurden in den letzten Jahrzehnten immer wieder als eine Alternative zur Proteinversorgung in der Geflügel- und Schweineernährung eingesetzt (Brune, 1982; Yap et al., 1982; Ross und Dominy, 1990; Venkataraman et al., 1994; Grinstead et al., 2000; Nedeva et al., 2014; Evans et al., 2015). Allerdings wurden bisher eher geringe Anteile in den Futtermischungen für Geflügel und Schweine eingesetzt. Die blau-grüne Mikroalge *Spirulina platensis* ist reich an Protein, essentiellen Amino- und Fettsäuren sowie Vitaminen und Mineralstoffen (Ciferri und Tiboni, 1985; Bellof und Carrasco Alarcón, 2013).

Fragen nach den Substitutionsmöglichkeiten von SES als Proteinquelle durch Mikroalgenmehl von *Spirulina platensis* wurden im Rahmen des vom Niedersächsischen Ministerium für Wissenschaft und Kultur geförderten Projektes „Sustainability Transitions: Alternative Proteinquellen in sozio-technischer Perspektive“ bearbeitet und insbesondere die Voraussetzungen für hohe Anteile an Mikroalgenmehl im Futter von Masthähnchen und Schweinen erforscht. Hierzu wurden kombinierte Wachstums- und N-Bilanzversuche mit Ferkeln, Mastschweinen und Masthähnchen durchgeführt.

2 Zielstellung

Folgende Aspekte werden als Hauptzielgrößen der vorliegenden Dissertation formuliert:

- Erforschung des Futterpotenzials einer alternativen Proteinquelle (Mikroalgenmehl) für die Geflügel- und Schweineernährung
- Analytische und ernährungsphysiologische Beurteilung der wertgebenden Inhaltsstoffe und der zu erwartenden Variabilität
- Bewertung der Einsatzmöglichkeiten des Mikroalgenmehles

Ziel ist es, den Proteinträger SES mit gestaffelten Anteilen (50 %, 75 % und 100 %) durch Algenmehl von *Spirulina platensis* mit unterschiedlichem Ergänzungsniveau durch kristalline Aminosäuren (AS) zu ersetzen und mögliche Grenzen zu identifizieren. Hierzu wurden folgende Untersuchungsparameter erfasst:

- Analytische Bestimmung der Nährstoffzusammensetzung der Proteinträger (XP, XA, XL, XF und AS)
- Akzeptanz und zootechnische Parameter (Wachstum, Futterverzehr, Futteraufwand, Proteinaufwand, Energieaufwand)
- Bestimmung des N-Ansatzes mit N-Stoffwechselfersuchen (Masthähnchen, Ferkel und Schweine) und Ganzkörperanalysen (Masthähnchen)
- Körperzusammensetzung beim Masthähnchen
- Bestimmung der Energieverwertung (Masthähnchen)
- Proteinverdaulichkeit
 - auf Kotniveau bei Ferkeln und Mastschweinen (scheinbare fäkale Proteinverdaulichkeit)
 - scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit bei Masthähnchen und Ferkel (Schlachtmethode mittels Indikator TiO_2 ; Kluth und Rodehutschord, 2006)
- Proteinqualitätsparameter, klassisch
 - NPU und PPW
- Proteinqualitätsparameter, standardisiert nach dem Göttinger N-Verwertungsmodell
 - NPU_{std} und b-Wert

3 Literaturübersicht

Dieses Kapitel soll zunächst einen Überblick über die Eigenschaften und Besonderheiten der blau-grünen Mikroalge *Spirulina platensis* geben.

3.1 Biologie der Mikroalge *Spirulina platensis*

Spirulina platensis (Ordnung: Oscillatoriales) auch bekannt als *Arthrospira platensis*, gehört zur Gattung der Cyanobakterien (Blau-/ Blau-Grünalgen). Blaualgen sind Prokaryonten und unterscheiden sich von den Eukaryonten in folgenden Merkmalen: ihnen fehlen Zellorganellen wie Zellkern, Lysosomen, Mitochondrien, membranbegrenzende Chloroplasten und das Endoplasmatische Retikulum (Becker und Venkataraman, 1982). Diese Mikroalgen sind reich an Protein, essentiellen Amino- und Fettsäuren sowie Vitaminen und Mineralstoffen (Ciferri und Tiboni, 1985; Bellof und Carrasco Alarcón, 2013). Ihre Lebensweise ist vorwiegend aquatisch im Süßwasser, weniger in Salzwasser. Die Art *Spirulina platensis* gehört zu den Organismen, die Photosynthese betreiben und somit in der Lage sind, organische Moleküle aus Kohlendioxid, Wasser sowie Mineralien aufzubauen (Mohanty et al., 1997). Zugleich produzieren sie viel Sauerstoff, welcher als Grundlage für das Leben auf der Erde ausschlaggebend ist (Lognone, 2003). Die Pigmente setzen sich aus Phycoerythin, Phycocyanin und Chlorophyll α zusammen (Becker und Venkataraman, 1982). Phycocyanin überwiegt anteilmäßig und bewirkt somit auch die bläuliche Farbe (Bellof und Carrasco Alarcón, 2013). Die Pflanzenmasse der *Spirulina platensis* ist hellgrün, die Trichome blaugrün. Leicht zusammengezogen an den Querwänden bilden sich regelmäßige Spiralen, deren Umdrehungen 26 - 36 μm breit und 43 - 57 μm lang sind (siehe Abbildung 1). Die Enden der Trichome sind leicht verringert und die Endzellen breit abgerundet (Geitler, 1925). Teilweise treten die Trichome geglättet auf (Grewe und Pulz, 2012).

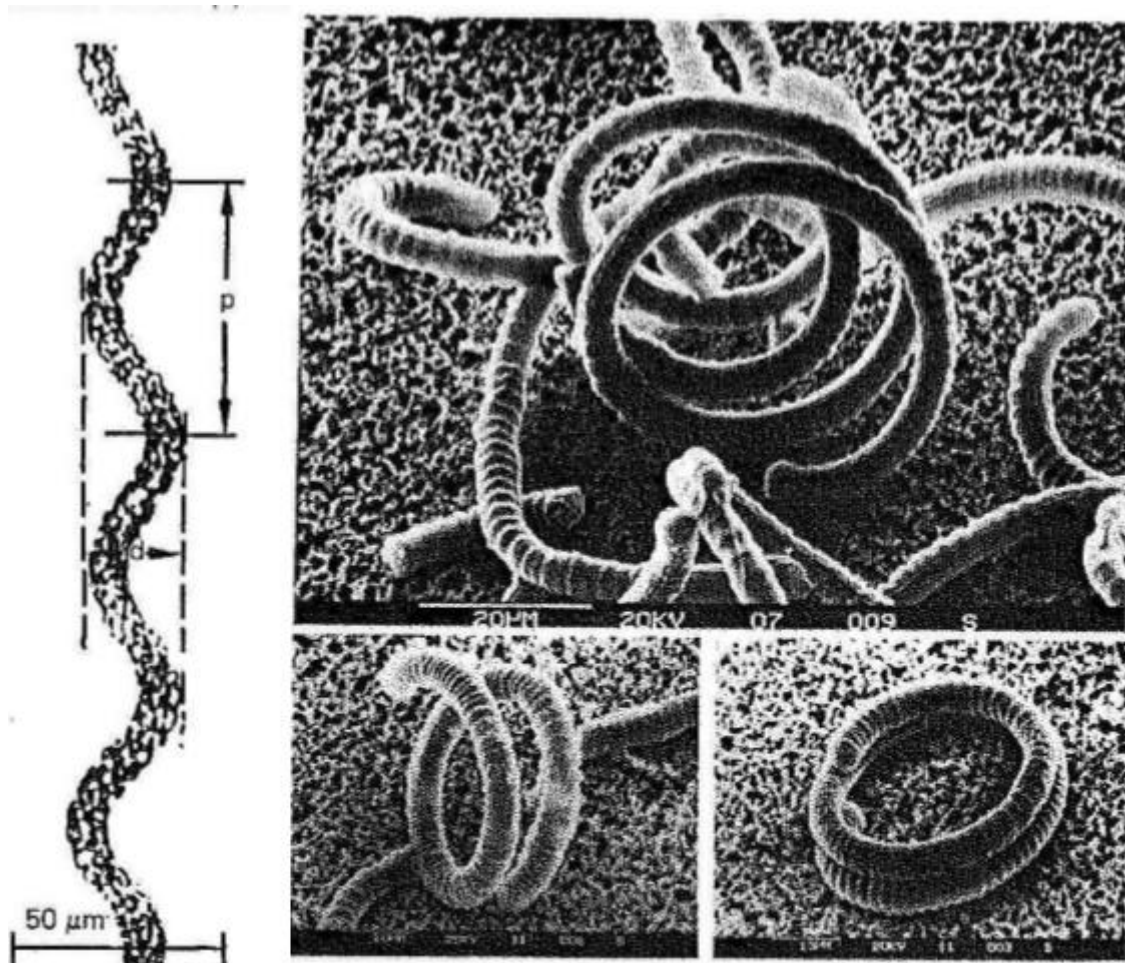
Abbildung 1: Die Struktur der *Spirulina platensis*

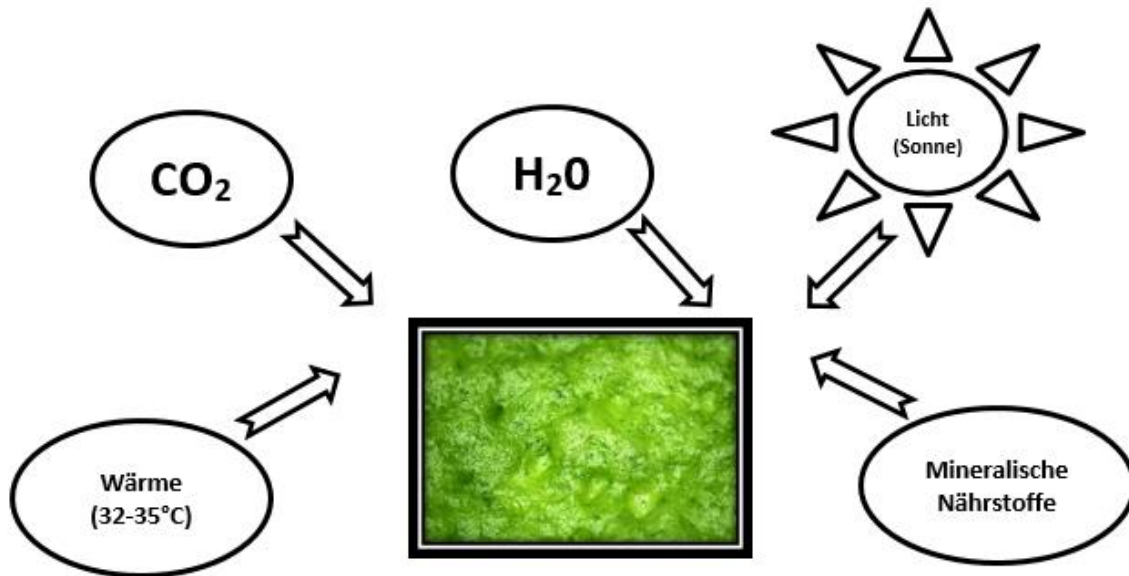
Abbildung links (nach Richmond, 1988): ein Teil des spiralförmigen Trichoms von *Spirulina platensis* beschreibt die Höhe (p) und den äußeren Durchmesser (d) der Spirale (übernommen von Van Eykelenburg, 1979). Abbildung rechts (nach Ciferri und Tiboni, 1985): elektronenmikroskopische Aufnahme eines axenischen Isolates von *Spirulina platensis* (Foto von R. Locci aus Ciferri und Tiboni, 1985).

3.2 Vorkommen und Kultivierung von *Spirulina platensis*

Die Mikroalge bewohnt in ihrer natürlichen Form stark alkalische Salzseen sowie basische Süßgewässer (pH-Wert zwischen 9 und 11; Shimamatsu, 2004) und besiedelt flache subtropische bis tropische Gewässer vor allem in Mittelamerika, Südostasien, Afrika und Australien. Die Algen sind als kleine Fäden in Spiralen unterschiedlicher Dichte und Anzahl aufgewickelt und können schnell wachsen. In warmen und seichten leicht salzigen Seen erreichen sie eine hohe Filament- (Faden-) dichte (Falquet und Hurni, 2006). Mikroalgen der Gattung *Spirulina* gedeihen nur unter warmen klimatischen Bedingungen mit viel Licht bzw. Sonneneinstrahlung. Der geeignetste Bereich liegt innerhalb des 35. Breitengrades nördlich bzw. südlich des Äquators. Außerhalb dieser Klimazone können *Spirulina*-Algen nur in thermisch regulierter Aquakultur kultiviert werden (siehe Abbildung 2). Die Temperatur für

ein optimales Wachstum liegt zwischen 32°C bis 35°C, nachts kommen die Algen mit Temperaturen im Bereich von 25°C aus (Cifferi, 1983).

Abbildung 2: Wachstumsansprüche von *Spirulina platensis*



Bildquelle: <http://www.earthsfirstfoods.com/freshwater-algae/spirulina/>

Weltweit wird die Mikroalge *Spirulina platensis* erzeugt. Die Produktionsmengen liegen dabei über denen von anderen Mikroalgen. Zwei Drittel der weltweit erzeugten Algenbiomasse stammt aus China (Chen et al., 2016). Schätzungen zufolge wurden im Jahr 2009 ca. 3500 t Algenbiomasse der Spirulina in China produziert (Lu et al., 2011). 50 t - 100 t Spirulina-Algen Trockenmasse pro ha und Jahr können gewonnen werden (Schulz, 2017). Der durchschnittliche Sojaertrag liegt dagegen in Deutschland bei 2,73 t/ha (Factfish, 2016) mit erheblichen Schwankungen zwischen den Standorten. Unter den Top 30-Ländern der Welt mit den höchsten Sojabohnenerträgen aus dem Jahr 2016 liegt die Türkei auf Platz 1 mit einem Ertrag von 4,32 t/ha, gefolgt von Georgien (3,76 t/ha), Italien (3,75 t/ha) und den USA auf Platz 4 mit 3,5 t/ha. Deutschland belegt im weltweiten Vergleich Platz 14 mit 2,73 t/ha und spiegelt somit auch den Durchschnitt aller Länder mit 2,76 t/ha wieder (Factfish, 2016).

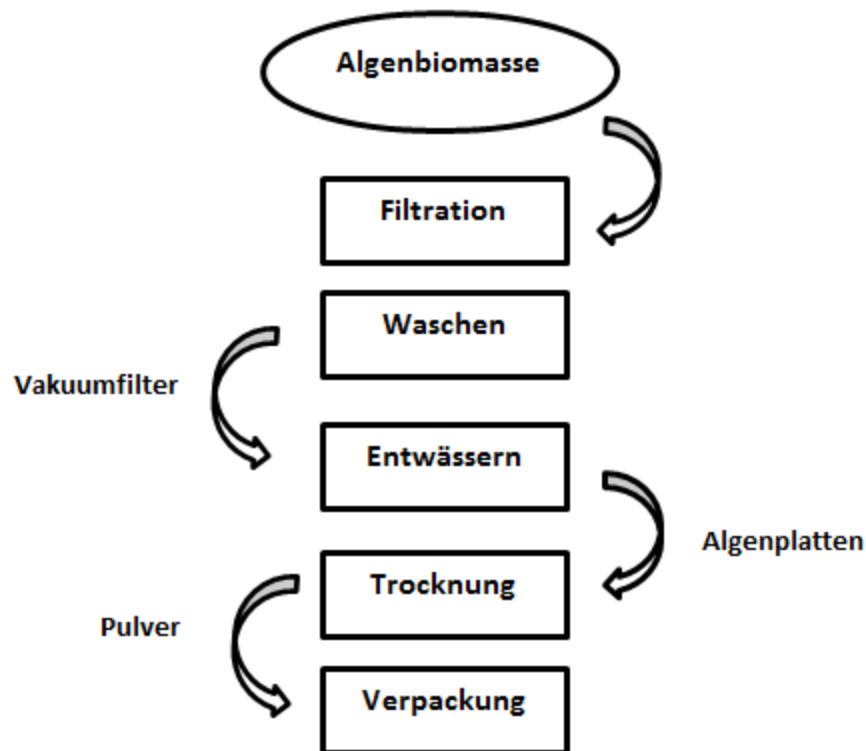
Neben den nachfolgend beschriebenen Kultivierungssystemen zur Produktion von *Spirulina platensis* besteht auch die Möglichkeit, die Algen aus natürlichen Kraterseen zu ernten. In Myanmar wird z.B. der Kratersee Twin Taung mit einer Größe von 200 ha genutzt (Grewe und Pulz, 2012). Im Sommer während der Blütezeit formen Spirulina-Algen dicke Matten auf der Wasseroberfläche. Diese werden mit Eimern abgeschöpft, gefiltert, mit Frischwasser

gewaschen, entwässert und anschließend in Stränge gepresst, die in der Sonne auf Plastikfolien getrocknet werden (Grewe und Pulz, 2012).

Die Erzeugung der Mikroalgen erfolgt nach technischem Umfang und erzielbarer Zuchtdichte in folgenden Kultivierungssystemen (Shields und Lupatsch, 2012):

- offene Teiche oder Behälter, mit oder ohne Belüftung oder Bewegung (Open Ponds)
- Blasen- oder Luftbrückensäulen, normal vertikal orientiert, seltener horizontal frequentiert
- geschlossene Photobioreaktoren, am häufigsten in röhrenförmiger Anordnung, weniger üblich sind flache Paneele / Platten

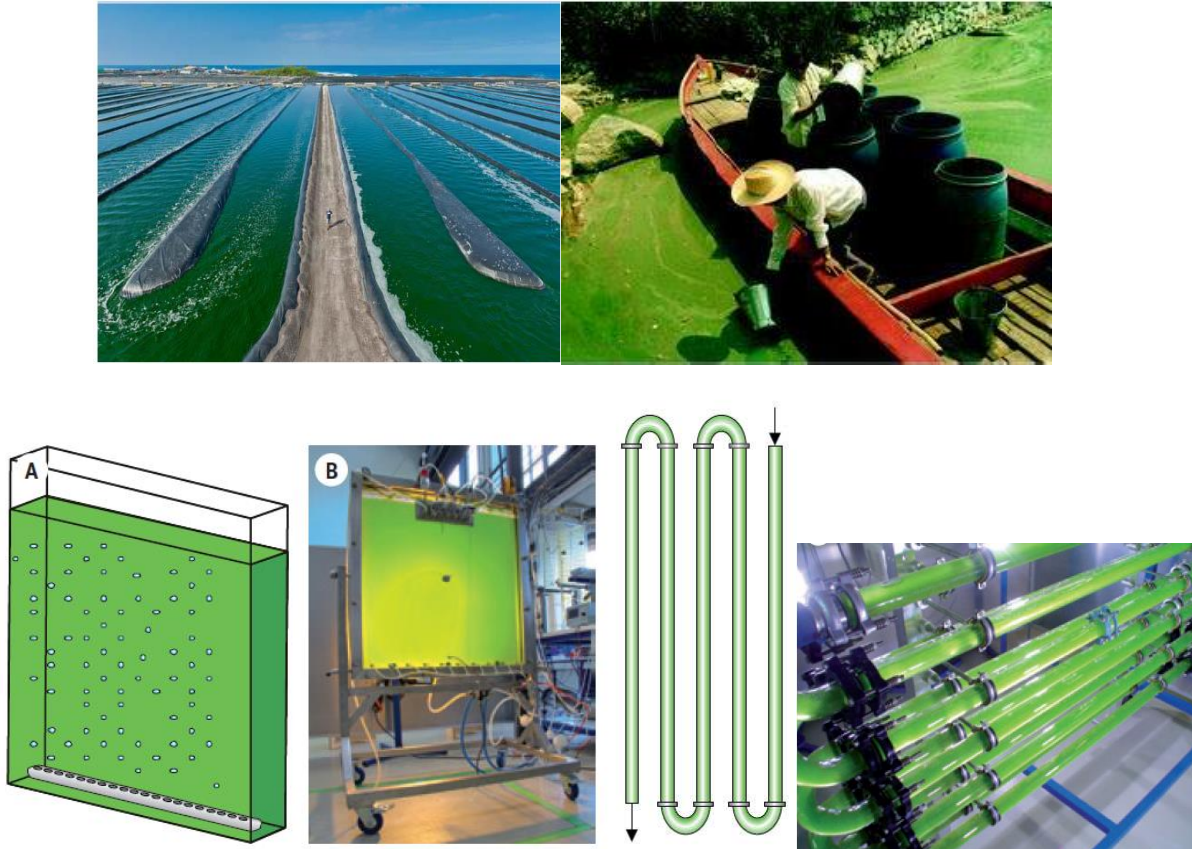
Die am häufigsten genutzten Kultivierungssysteme sind offene Kanäle und Teiche, die mit Polyvinylchlorid ausgekleidet sind. Schaufelräder halten das Kulturmedium in Bewegung (Shimamatsu, 2004; FAO, 2008; Chen et al., 2016). Die Wassertiefe beträgt ca. 15 - 30 cm. Der flache Wasserstand ist wichtig für eine optimale Lichteinstrahlung. Eine Wassertiefe über 30 cm führt zu einer starken Verringerung der Photosynthese aufgrund von unzureichender Lichtversorgung. Für das Kulturmedium wird ein reiner Stamm im Labor vorkultiviert und in das Becken mit Wasser appliziert. Die Wasserqualität ist mitverantwortlich für die Beschaffenheit der Alge. Der Verschnitt von frischem Wasser mit nährstoffreichem Meerwasser ist Standard (Shimamatsu, 2004; Bellof und Carrasco Alarcón, 2013). Die Algendichte sollte im Kulturmedium zwischen 400 bis 600 mg Trockenmasse pro Liter betragen (Shimamatsu, 2004). Sobald das gewünschte Wachstum erreicht ist, wird die Mikroalge aus dem Becken gepumpt, gefiltert und gereinigt. Die Reinigung erfolgt mehrmals mit Frischwasser, um Nährstoffe des Mediums zu entfernen (Becker und Venkataraman, 1984; Shimamatsu, 2004). Ein Vakuumfilter presst die Biomasse in nasse Algenplatten, die 8 % - 15 % Trockensubstanz (TS) enthalten. Die Algenbiomasse wird entweder sonnengetrocknet, sprühgetrocknet, gefrier- oder walzengetrocknet. Um eine Schädigung der Nährstoffe durch die maschinelle Trocknung auszuschließen, dauert die Erhitzung nur Sekunden bis wenige Minuten (Hu, 2004; Shimamatsu, 2004). In Abbildung 3 ist der Produktionsprozess von frischen Spirulina-Algen zu Spirulinamehl (SM) vereinfacht dargestellt.

Abbildung 3: Produktionsprozess von *Spirulina platensis*

Die Vorteile der offenen Kultivierungsverfahren sind die einfachen Konstruktionen, die geringen Kosten und das Nutzen von unfruchtbarem Land. Nachteile von Open Ponds sind der kontinuierliche Verlust von Wasser durch Verdunstung und Kohlendioxid durch Diffusion in die Atmosphäre. Ebenso kann es zu Schwankungen in der Qualität der Biomasse durch die jahreszeitlich bedingte Variation der Wärme- und Lichtverhältnisse kommen. Es besteht zudem die Gefahr einer Kontamination mit Pestiziden, Schwermetallen, schnellwachsenden Bakterien oder mit toxinbildenden Algen (Microcystine; Alpag, 2013). Abhilfe gegen diese Nachteile schafft ein Kunststoffunnel, der in kälteren Klimazonen über die Kanäle gebaut wird und so die Temperaturen des Kulturmediums konstant hält. Zusätzlich verhindert er die Verdünnung des Mediums durch starke Regenfälle sowie Kontaminationen mit Bakterien und Fremdalgen (Shimamatsu, 2004; Lu et al., 2011; Chen et al., 2016). Die Vorteile und die Nachteile der offenen Systeme bilden die Schwächen und Stärken der geschlossenen Systeme. Die Einrichtung und die Betriebskosten der Photobioreaktoren sind kostenintensiver. Ein großer Vorteil der Photobioreaktoren ist die Isolierung zur äußeren Umgebung und damit einhergehend die kontrollierte Züchtung der Mikroalgenkulturen. Die Verluste von Wasser und Kohlenstoffdioxid sind gering und die Gefahr der Verunreinigung ist auf das Minimale reduziert. Photobioreaktoren benötigen wenig Platz und können in allen Klimazonen

eingesetzt werden. Die Biomassenausbeute in geschlossenen Systemen ist deutlich höher als in offenen (Alpag, 2013). Abbildung 4 zeigt Schemata zu den Produktionssystemen.

Abbildung 4: Produktionssysteme von *Spirulina platensis*



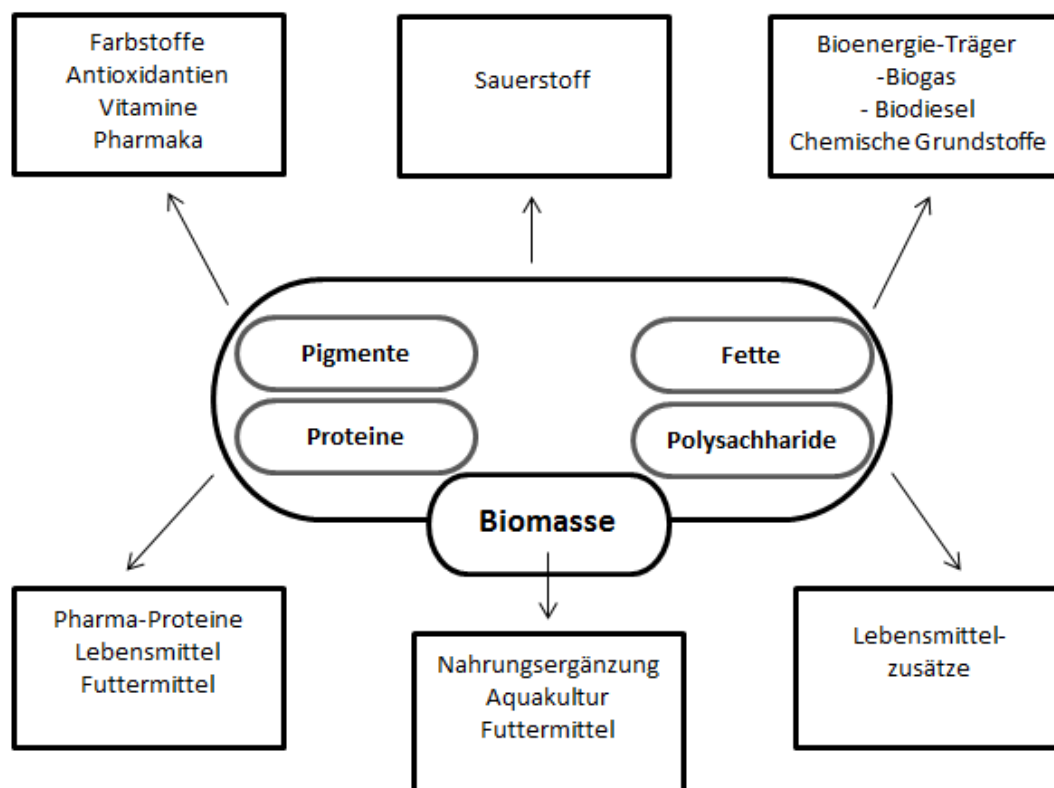
Oben links: Fließkanäle mit Schaufelrädern (Benemann, 2013); oben rechts: natürliche Ernte Twin Tauny in Myanmar (Sili et al., 2012); unten links: Plattenreaktoren aus transparenten Platten, die die Algensuspension einschließen. CO₂ wird durch Luftblasen von unten zugeführt. Luftblasen dienen zum Mischen. A: Schemazeichnung; B: ein Forschungsreaktor am Karlsruher Institut für Technologie, Abteilung Bioverfahrenstechnik; unten rechts: Grundprinzip Rohrreaktor und Forschungs-Rohrreaktor am Karlsruher Institut für Technologie, Abteilung Bioverfahrenstechnik. Rohrreaktoren bestehen aus Glas- oder transparenten Kunststoffrohren, in denen die Algensuspension umgepumpt wird (Bippes et al., 2016).

3.3 Verwendungsmöglichkeiten von *Spirulina platensis*

Verwendung finden Blaualgen vor allem als Nahrungsergänzungsmittel für eine erhöhte Zufuhr an Vitaminen und Mineralstoffen (Geier und Buchholz, 2013). Solche Produkte werden seit hunderten von Jahren traditionell in einigen Regionen (Afrika, Amerika und Asien) in der Humanernährung genutzt (Ciferri und Tiboni, 1985; Bellof und Carrasco Alarcón, 2013). Ca. 95 % der jährlichen Mikroalgenproduktion wird zu Pulver, Tabletten oder Kapseln verarbeitet (Grewe und Pulz, 2012; Chen et al., 2016). *Spirulina platensis* zählt zu den am stärksten verbreiteten Mikroalgen weltweit. Lebensmittelproduzenten in Deutschland

verwenden Mikroalgen hauptsächlich als Zusatzstoff in Brot, Pasta, Joghurt, Süßigkeiten und Softdrinks (Grewe und Pulz, 2012). Als natürliche Farbstoffe werden Spirulina-Algen in Gummibärchen (z.B. Haribo) eingesetzt. Neben Chlorophyll kommen die Pigmente Carotinoide und Phycobiliproteine vor. Phycocyanin ist eine der vielversprechendsten Substanzen in Spirulina-Algen. Es wird in Japan als natürlicher Farbstoff unter dem Namen Lina-blue vermarktet. In China und Japan findet Lina-blue Verwendung in Kaugummi, Bonbons, Milchprodukten, Gelees, Softdrinks, etc. Mikroalgenpigmente wie auch die gesamte Biomasse können als Lebensmittel- und Futterfarbe sowie zur Texturverbesserung z.B. bei der Zubereitung von Biskuit eingesetzt werden (Gouveia et al., 2008; Kovač et al., 2013). In Küstenregionen spielen Algen im großen Umfang eine Rolle in der Fütterung von Tieren. Schon während des ersten Weltkrieges führte ein Hafer- und Futtermangel dazu, Algen als Futter einzusetzen (Lognone, 2003). Nur etwa 1 % der weltweit produzierten Cyanobakterienbiomasse findet Einsatz in der Tierernährung (Grewe und Pulz, 2012). Abbildung 5 zeigt die breite Spanne der Nutzung von *Spirulina platensis*.

Abbildung 5: Nutzung von *Spirulina platensis* (verändert nach Bippes et al., 2016)



3.4 Ernährungsphysiologische Eigenschaften von *Spirulina platensis*

Die ernährungsphysiologischen Eigenschaften der Algenmehle aus *Spirulina platensis* sind sehr variabel. Die Gehalte an essentiellen Aminosäuren und der Anteil an Aminosäuren insgesamt sind von der Kultivierungsart der Alge abhängig (Chung et al., 1978). Ebenso spielt die Temperatur und der Natriumnitratgehalt eine Rolle für die Zusammensetzung der Protein- und Fettfraktion (Colla et al., 2007). Durch die Hitze beim Trocknen der Algenbiomasse können Aminosäuren und Vitamine geschädigt und damit deren Verfügbarkeit eingeschränkt werden. Der Trocknungsprozess beeinflusst auch den Stärkegehalt. Sonnengetrocknetes SM weist einen geringeren Stärkegehalt auf als z.B. sprühgetrocknetes SM. Der geringere Stärkegehalt korrespondiert mit einem Anstieg des Zuckergehaltes (Becker und Venkataraman, 1982).

Verdaulichkeit der Mikroalge

Mikroalgen der Art *Spirulina platensis* besitzen keine Zellulose in der Zellwand, sondern eine dünne instabile Hülle aus Murein (Peptidoglykane) und stellen damit keine Barriere für proteolytische Enzyme dar (Grewe und Pulz, 2012). Dies erklärt die sehr hohe Verdaulichkeit ihrer Proteine von 80 - 90 % (Devi et al., 1981). Die Spirulina-Alge kann ohne vorherige chemische oder physikalische Verarbeitung von Monogastriden verdaut werden (Becker, 2004). Die *in-vitro* Verdaulichkeit des Proteins nach der Inkubation der Alge mit Pepsin und einer anschließenden Behandlung mit Pankreatin wurde von Devi et al. (1981) bestimmt. Die Verdaulichkeit lag zwischen 70 % und 85 %, dabei war die frische Spirulina-Alge besser verdaulich als sonnen- oder gefriergetrocknetes SM. Kohlenhydrate und Ballaststoffe in der Spirulina-Alge können die Verdaulichkeit beeinträchtigen und gastrointestinale Störungen, Flatulenz oder Flüssigkeitsretention verursachen (Becker, 2004).

Proteingehalt und Proteinfraction von *Spirulina platensis*

Algenmehle von *Spirulina platensis* zeichnen sich durch ihren hohen Proteingehalt aus. Dieser variiert zwischen 50 % und 70 % in der Trockenmasse (Yoshida und Hoshii, 1980; Ciferri und Tiboni, 1985; Shekharam, 1987; Nagaoka et al., 2005). In der Proteinfraction sind alle essentiellen Aminosäuren vorhanden. Die niedrigsten Gehaltswerte weisen die schwefelhaltigen Aminosäuren (SAS), Methionin (Met) und Cystein (Cys) auf (Clément et al., 1967). Auch der Lysin (Lys)-Gehalt wird von einigen Autoren als unzureichend angesehen (Cifferi, 1983; Becker und Venkataraman, 1984), wobei andere Autoren das Niveau als angemessen betrachten (Clément et al., 1967). Tabelle 1 veranschaulicht die Aminosäurezusammensetzung der Proteinfraction von *Spirulina platensis*.

Tabelle 1: Aminosäurezusammensetzung von *Spirulina platensis*

Aminosäure	gAS/16gN					
	I	II	III	IV	V	VI
Lys	2,7	4,7	4,7	4,3	4,8	5,1
Met	1,4	3,4	2,8	1,9	2,5	2,1
Cys	0,2	1,2	0,4	0,8	0,9	1,0
Thr	2,8	4,9	4,9	-	6,2	4,5
Trp	-	-	1,5	0,9	0,3	1,8
Arg	4,3	6,8	6,6	6,2	7,3	6,1
Ile	1,7	5,3	5,7	4,9	6,7	4,4
Leu	4,8	8,3	8,7	8,0	9,8	8,1
Val	1,9	5,7	6,3	5,7	7,1	5,7
His	0,9	1,7	2,0	1,1	2,2	1,7
Phe	2,3	4,3	4,3	3,6	5,3	4,7
Tyr	2,4	4,4	4,5	3,5	5,3	-
Asp	7,5	9,2	9,5	9,0	11,8	8,8
Ser	3,5	5,0	4,8	3,7	5,1	4,2
Glu	8,9	14,0	15,0	15,1	10,3	11,4
Pro	5,8	3,7	3,6	-	4,2	4,0
Gly	4,5	5,2	5,0	4,6	5,7	5,2
Ala	5,7	7,8	7,4	6,9	9,5	7,3

I: kalkuliert nach Ross und Dominy (1990), XP-Gehalt: 605 g/kg

II: kalkuliert nach Alvarenga et al. (2011), XP-Gehalt: 582 g/kg

III: Yoshida und Hoshii (1980), XP-Gehalt: 559 g/kg

IV: Narasimha et al. (1982), XP-Gehalt: 585 g/kg

V: Becker und Venkataraman (1984), XP-Gehalt: 625 g/kg

VI: kalkuliert AMINODat® 5.0 (2016), Mittelwert aus n=10, XP-Gehalt: 531 g/kg

- : keine Angabe

Der Anteil des Proteins kann bei der Berechnung durch das Vorhandensein von Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) überschätzt werden (Lourenço et al., 2004; Laurens et al., 2012; Tibbetts et al., 2015b). Der Gehalt an NPN-Verbindungen in Mikroalgen hat je nach Gattung, Jahreszeit und Wachstumsphase eine Schwankungsbreite von 4 % bis 40 % des Gesamt-N (Lourenço et al., 2004; Tibbetts et al., 2015a). Devi et al. (1981) sprechen von einem NPN-Gehalt in gefriergetrocknetem SM von 1,58 % in der TS. Becker und Venkataraman (1982) berichten von einem Wert von 1,5 % NPN in der TS. Zu den NPN-Verbindungen zählen u.a. Nukleinsäuren (3,3 % – 4,95 % der TS der Algenbiomasse; Saxena et al., 1983), Amine und

N-haltiges Zellwandmaterial (Becker, 2004). NPN-Verbindungen können im engeren Sinne meist nur mikrobiell verwertet werden (Stangl, 2014a). Nach einigen Autoren (Lourenço et al., 2004; Laurens et al., 2012; Tibbetts et al., 2015b) wird der Proteingehalt durch den Umrechnungsfaktor von $N \times 6,25$ – der als Standard gilt – überschätzt. Im Protein der Futtermittel sind im Mittel 16 % N enthalten. Einzelne Futtermittel können stark abweichen. Für Mikroalgen bestimmten Lourenço et al. (2004), Laurens et al. (2012) und Tibbetts et al. (2015b) einen Umrechnungsfaktor im Mittel von $N \times 4,78$.

Wie unter 3.2 beschrieben, können 50 t - 100 t Algenbiomasse Trockensubstanz pro ha und Jahr gewonnen werden (Schulz, 2017). Geht man davon aus, dass der Proteingehalt in SM 50 - 70 % in der TS beträgt, errechnet sich ein Proteinertrag von 25 - 70 t/ha und Jahr. Der Sojabohnenertrag liegt nur bei 2,76 t/ha weltweit (Factfish, 2016), und der Proteingehalt schwankt in der Trockensubstanz zwischen 38 - 42 % (Baumgärtel et al., 2014). Dies lässt auf einen Proteinertrag von 1,14 - 1,26 t/ha schließen. In den Gunstländern z.B. Türkei mit 4,3 t/ha entspricht dies einem Proteinertrag von 1,6 - 1,8 t/ha. Schlussfolgernd kann der Proteinertrag von SM im günstigsten Fall um das 20- bis 50 -Fache höher sein als der von Soja.

Fettgehalt und Fettfraktion von *Spirulina platensis*

Während einige Publikationen in Algenmehlen von *Spirulina platensis* einen Fettgehalt von 2,6 - 5,5 % (in der Frischsubstanz (FS)) und 2 - 7 % (in der TS) angeben (Becker und Venkataraman, 1982; Grinstead et al., 2000; Alvarenga et al., 2011; Bellof und Carrasco Alarcón, 2013), gehen andere Autoren von einem höheren Gehalt von 11 % (in der TS) aus (Hudson und Karis, 1974; Ciferri und Tiboni, 1985; Shields und Lupatsch, 2012). Diese Fette können in verseifbare (83 %) und unverseifbare Verbindungen (17 %) unterschieden werden. Als nicht verseifbare Fette treten hauptsächlich Paraffin, Pigmente, Terpenalkohol und Sterole auf (Bujard et al., 1970; Clément, 1975). Nach Hudson und Karis (1974) sind die dominierenden Fette in SM: Mono-, Di- und wahrscheinlich höhere Galactosyldiglyceride und Phosphatidglycerole. Den höchsten Anteil der neutralen Fette machen die Fettsäuren aus.

Nach Brune (1982) sind Lipide aus Algen schlecht verwertbar. In den Fütterungsversuchen mit SM (*Spirulina maxima*) wirkte sich die Lipidextraktion der Algenmasse positiv auf die Lebendmassezunahmen (LMZ) von Broilern aus. Neben gut verwertbaren Fettsäuren (Soeder, 1979) enthält das Rohfett der Spirulina-Alge auch längerkettige ungesättigte (C 22:6) sowie unidentifizierte Fettsäuren. Diese Tatsache lässt den Verdacht aufkommen, dass in diesem Bereich wachstumshemmende Faktoren zu suchen sind. Das Rohfett der Spirulina-Alge

enthält größere Mengen an Chlorophyll, Xanthophyll, Sterine, Triterpene, die im Sinne einer Verdrängungsreaktion auf die Verwertung der fettlöslichen Vitamine einwirken könnten (Brune, 1982).

Fettsäuren in *Spirulina platensis*

Das Algenmehl von *Spirulina platensis* hat einen hohen Gehalt an Ölsäure, die einfach ungesättigt ist. Ihr Anteil beträgt 34,4 % des Gesamtfettgehaltes (siehe Tabelle 2: Fettsäurezusammensetzung).

Tabelle 2: Fettsäurezusammensetzung von *Spirulina platensis*

Fettsäure	in % des Gesamtfettgehaltes		in % des Gesamtfettsäuregehaltes	
	I	II	III	IV
C 12:0 (Laurinsäure)	-	-	-	3,10
C 14:0 (Myristinsäure)	0,41-0,46	0,42-3,65	0,2-0,5	3,60
C 14:1 (Myristoleinsäure)	0,30-0,53	0,06-0,23	-	-
C 16:0 (Palmitinsäure)	26,61-27,86	43,60-51,33	25,8	42,79
C 16:1 (Palmitoleinsäure)	1,84-2,27	4,83-7,60	3,8	0,52
C 18:0 (Stearinsäure)	5,80-8,82	0,69-3,33	1,7	1,81
C 18:1 (Ölsäure)	32,86-35,74	4,71-5,99	16,6	0,33
C 18:2 (Linolsäure)	10,37-14,45	18,94-20,15	12,0	9,43
C 18:3 (γ -Linolensäure)	3,64-5,52	4,19-4,50	40,1	18,41
C 18:3 (α -Linolensäure)	0,62-0,71	0,01-0,02	-	-
C 18:4 (Stearidonsäure)	0,57-0,81	-	-	-
C 20:4 (Arachidonsäure)	0,34-0,41	-	-	-
C 20:5 (Eicosapentaensäure)	2,21-2,91	-	-	-
C 22:6 (Docosahexaensäure)	2,30-3,51	-	-	-

I: nach Tokuşoglu und Ünal (2003)

II: nach Aouir et al. (2017)

III: nach Pascaud (1993)

IV: Bensehaila et al. (2015)

- : keine Angaben

Zusätzlich enthält SM 27,2 % die gesättigte Fettsäure Palmitinsäure. Besonders zu erwähnen ist der hohe Gehalt an essentiellen Fettsäuren, die sich in zwei Gruppen einteilen lassen, die Omega-3(ω -3) und die Omega-6(ω -6) Fettsäuren. Der tierische und menschliche Organismus kann diese mehrfach ungesättigten Fettsäuren nicht selbst synthetisieren, sie

müssen dem Körper über die Nahrung zugeführt werden. Der Anteil der ω -3-Fettsäuren beträgt bei *Spirulina* durchschnittlich 6,9 %, der Anteil der ω -6-Fettsäuren 16,4 % des Gesamtfettgehaltes. Die essentiellen Fettsäuren mit dem höchsten Gehalt sind die Linolsäure (12 %) und die γ -Linolensäure mit 4,6 % jeweils des Gesamtfettgehaltes (Tokuşoglu und Ünal, 2003).

Kohlenhydratgehalt und Kohlenhydratfraktion von *Spirulina platensis*

In zahlreichen Publikationen ist der Anteil der Kohlenhydrate von Mehlen der *Spirulina platensis* lediglich aus der Differenz der Biomasse insgesamt und den analysierten Asche-, Fett- und Proteinanteilen ausgewiesen. Die Angaben schwanken zwischen 8 und 16 % der TS (Becker und Venkataraman, 1982; Becker und Venkataraman, 1984; Cifferi und Tiboni, 1985; Richmond, 1988; Tokuşoglu und Ünal, 2003). Stärke spielt offensichtlich eine untergeordnete Rolle. Becker und Venkataraman (1982) sprechen von einem Stärkegehalt von 1,5 % der TS und Kovács et al. (2016) bestimmten einen Wert von 3,6 %. Der Gesamtzuckergehalt von SM liegt bei 7,5 % der TS (Becker und Venkataraman, 1982). Folgende Zuckerarten konnten nachgewiesen werden: Rhamnose, Xylose, Mannose, Galaktose und Glukose (Shekharam et al., 1987). Glukose (54 %), gefolgt von Rhamnose (22 %), machen dabei den höchsten Anteil der Zuckerarten aus (Shekharam et al., 1987; Richmond, 1988).

Rohfasergehalt in *Spirulina platensis*

Der Rohfasergehalt in Mehlen von *Spirulina platensis* kann zwischen 0,8 und 7 % der TS liegen (Yoshida und Hoshii, 1980; Narasimha et al., 1982; Nagaoka et al., 2005; Alvarenga et al., 2011; Bellof und Carrasco Alarcón, 2013).

Energiegehalt von *Spirulina platensis*

Der Energiegehalt von SM bewegt sich zwischen 19,2 bis 20,1 MJ GE/kg (Yoshida und Hoshii, 1980; Shields und Lupatsch, 2012; Kovács et al., 2016) und 11,04 bis 11,4 MJ ME/kg bei Geflügel (Raach-Moujahed et al., 2011; Bellof und Carrasco Alarcón, 2013).

Vitamine in *Spirulina platensis*

Die Zusammensetzung an Vitaminen in den Algen ist trotz saisonaler Schwankungen, Stadium in der Wachstumsphase und unterschiedlicher Lichtintensität ernährungsphysiologisch interessant (siehe Tabelle 3: Borowitzka, 1988; Lognone, 2003). Im Gegensatz zu Pflanzen enthalten Algen einen beachtlichen Gehalt an Vitamin B12 (Lognone, 2003). Der Gehalt an Provitamin A ist bemerkenswert hoch.

Tabelle 3: Vitamine in *Spirulina platensis*

Vitamine	in mg/kg			
	I	II	III	IV
Provitamin A	-	2140,0	-	-
Thiamin (B1)	30,0-40,0	19,8	34,0-50,0	34,0-50,0
Riboflavin (B2)	25,0-35,0	36,3	30,0-46,0	30,0-46,0
Niacin (B3)	105	132	130,0-150,0	130,0
Pantothensäure (B5)	5,0-8,0	8,8	-	4,6-25,0
Pyridoxin (B6)	5,0-7,0	5,9	5,0-8,0	-
Inositol	-	740	-	-
Biotin (B7)	-	-	-	0,05
Cobalamin (B12)	1,2-2,5	1,1	1,5-2,0	1,5-2,0
Folsäure (B9)	-	0,4	0,5	0,5
Ascorbinsäure (Vitamin C)	-	-	-	Spuren
Tocopherol (Vitamin E)	50,0-70,0	118,0	-	-

I: nach Borowitzka (1988)

II: nach Shimamatsu (2004)

III: nach Holman und Malau-Aduli (2013)

IV: nach Falquet und Hurni (2006)

- : keine Angaben

Mineral- und Spurenelemente in *Spirulina platensis*

Der Aschegehalt liegt zwischen 6,0 und 15,6 % der TS (Cifferi und Tiboni, 1985; Ross und Dominy, 1990; Raach-Moujahed et al., 2011; Shields und Lupatsch, 2012). Höhere Aschegehalte können durch Verunreinigungen während des Ernte- und Trocknungsprozesses entstehen oder auf das Vorhandensein von Sandanteilen zurückzuführen sein. Der Aschegehalt liegt nach Tokuşoglu und Ünal (2003) zwischen 7,43 und 10,38 % in der TS. *Spirulina platensis* enthält wichtige Mineralstoffe. Im Detail sind hohe Gehalte an Eisen, Phosphor, Kalzium und Magnesium zu erwähnen. In Tabelle 4 sind aktuelle Angaben zum Mengen- und Spurenelementgehalt zu entnehmen.

Tabelle 4: Gehalte an Mengen- und Spurenelementen in Algenmehl von Spirulina

Element	mg/kg			
	I	II	III	IV
Kalzium	1710	1300-14000	2800	7030-8930
Phosphor	9140	6700-9000	9500	7034-8027
Magnesium	2570	2000-4000	2800	3683-3997
Kalium	17700	6400-15400	9900	13269-15040
Natrium	10500	4500	4700	9023-18973
Eisen	574	600-6000*	1800	901-1036
Kupfer	-	8-2000*	19	1,2-4,9
Zink	-	21-6000*	330	24,5-30,1
Mangan	-	25-37	46	38-52,3
Kadmium	-	-	-	0,1-0,2
Chrom	-	2,8	-	0,9-1,5
Selen	-	0,01-50*	-	1,1-36,8

I: Spirulina, Art unbekannt nach Shimamatsu (2004)

II: Spirulina, Art unbekannt nach Falquet und Hurni (2006)

III: *Spirulina platensis* nach Ross und Dominy (1990)

IV: *Spirulina platensis* nach Tokuşoglu und Ünal (2003)

*hohe Werte durch eine spezifische Anreicherung erhalten

- : keine Angaben

Untersuchungen zu potentiell toxischen Mineralstoffen

In vorangegangenen Studien waren toxische Substanzen wie Blei, Quecksilber, Arsen und Fluor nicht nachweisbar (Santillan, 1974). Allerdings hat eine Studie Hinweise auf hohe Gehalte an Arsen und Fluor in Spirulina-Algen nachgewiesen, wenn die Biomasse in ihrer natürlichen Umwelt geerntet wurde. Ratten, die als einzige Proteinquelle natürliche Spirulina-Algen verabreicht bekamen, zeigten keine toxischen Wirkungen in Bezug auf die getestete Proteinquelle (Boudène et al., 1975). Ein Problem besteht dann, wenn die Mikroalge während des Kultivierungsprozesses mit anderen Algenarten verunreinigt wird. Diese Fremdalgen sind in der Lage, Toxine (z.B. Microcystin) zu bilden, die sich später im SM-Produkt anreichern können. Um diesem Problem zu entgehen, ist eine verstärkte Kontrolle des Anbauprozesses wichtig (Bellof und Carrasco Alarcón, 2013). In einer künstlich gestalteten Umwelt existieren diese Verunreinigungen nicht, und die Messwerte liegen unter den relevanten Normen. In Tabelle 5 werden Gehalte an potenziell toxischen Mineralstoffen in Spirulina-Algen dargestellt.

Tabelle 5: Gehalte an potenziell toxischen Mineralstoffen (nach Falquet und Hurni, 2006)

Toxische Mineralstoffe	Gehalt in ppm
Arsen	0,06-2,0
Selen	0,01-0,04
Kadmium	0,01-0,1
Quecksilber	0,01-0,2
Blei	0,6-5,1
Fluor	112-630

Pigmente in *Spirulina platensis*

Die Pigmentzusammensetzung von Spirulina-Algen ist typisch für Cyanobakterien. Folgende Pigmente sind nachgewiesen worden: Chlorophyll α , β -Carotine, Echinenone, β -Cryptoxanthin, Zeaxanthin, Myxoxanthophyll, Oscillaxanthin und die Biliproteine (C-Phycocyanin und Allophycocyanin; Becker und Venkataraman, 1982). Der Gehalt an Chlorophyll α kann von 0,8 bis 1,5 % der Trockenmasse variieren. Der Gehalt des Carotinoides Xanthophyll von gefriergetrocknetem SM ist beträchtlich und erreicht bis zu 6,9 g/kg. Weitere Carotinoide sind das an Rhamnose gebundene monocyclische Carotinoid Myxoxanthophyll, β -Carotin und Zeaxanthin (Cohen, 1997). Das Myxoxanthophyll und das β -Carotin machen 0,2 bis 0,4 % der TS aus. Die natürlich vorkommenden Farbstoffe in Spirulina-Algen werden oft genutzt, um die Qualität bzw. Farbe von Fisch- und Hühnerfleisch sowie Eiern zu verbessern (Ciferri, 1983). Das vorhandene Phycocyanin bewirkt die blaue Färbung der Alge (Bellof und Carrasco Alarcón, 2013). Der Gehalt an Phycocyanin kann durch das Kultivierungsmedium beeinflusst werden. Algenbiomasse, die im Gärsubstrat kultiviert wird, zeigt einen höheren Gehalt an Phycocyanin (86,2 mg/g) als Biomasse, die im konventionellen Nährmedium wächst. Hier betrug der Gehalt an Phycocyanin 63,3 mg/g (Hultberg et al., 2017). Shimamatsu (2004) hingegen spricht von einem Phycocyaningehalt von 162 mg/g (siehe Tabelle 6). Saxena et al. (1983) sprechen von einem deutlich niedrigeren Phycocyaningehalt, der bei sonnengetrocknetem SM im Bereich von 0,8 – 1,0 % in der FS liegt. Carotinoide, Chlorophyll und Phycocyanin können zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen gezählt werden, die für die Gesundheit des Tieres interessant sein können. Als erwünscht gelten Stoffe mit antimikrobieller, antioxidativer oder immunmodulierter Wirkung. Es gibt aber auch antinutritive Faktoren, die die Nährstoffverdaulichkeit, die Futteraufnahme (FI) und die Schilddrüsenaktivität hemmen (Stangl, 2014b). In der Literatur wird der blaue

Farbstoff Pycocyanin nicht als leistungshemmend angesehen (Bensehaila et al., 2015). Akhilender Naidu et al. (1999) verfütterten hohe Konzentrationen von Phycocyanin, dem blauen Farbstoff von *Spirulina platensis*, ohne nachteilige Wirkungen an Ratten. Phycocyanin zeigte eine antioxidative Wirkung, es fängt Peroxyl-Radikale ab (Romay et al., 1998; Herrero et al., 2004). Ein Experiment von Kistanova et al. (2009) zeigte, dass sich die antioxidativen Eigenschaften von *Spirulina* positiv bei der Abwehr von oxidativem Stress im Sperma von Ebern auswirkte. Die Spermien wiesen eine höhere Überlebensfähigkeit während der Lagerung und eine hohe Wärmebeständigkeit auf.

Tabelle 6: Pigmente in Spirulina (nach Shimamatsu, 2004)

Pigment	Gehalt (pro 100 g TS)
Phycocyanin	16,2 g
Carotinoide	477,0 mg
Chlorophyll α	1,2 g

3.5 Algenmehle von Spirulina in der Tierernährung

Spirulina-Algen besitzen aufgrund ihrer hohen Verdaulichkeit ohne Vorbehandlung ein Alleinstellungsmerkmal (Becker, 1988). Nach Becker und Venkataraman (1982) bestehen Unterschiede in der Verdaulichkeit von frischen *Spirulina*-Algen (82 %) sowie sonnengetrockneten und sprühgetrockneten SM (65 % - 70 %). SM wurde bisher in einigen Tierversuchen getestet. Dies zeigt, dass die Nährstoffzusammensetzung der Mikroalgen in Futterrationen von Rindern, Schweinen, Geflügel und in der Aquakultur von hohem Interesse ist. Wegen des hohen Biomassenbedarfs beschäftigen sich bislang die meisten Studien nicht mit der Alge als alleinige Proteinquelle in Futtermischungen. Weitere Gründe für den geringen Anteil in den Futtermischungen sind die grüne Farbe, der Fischgeruch und die pulvrige Konsistenz (Becker, 2007). Im Versuch von Shields und Lupatsch (2012) verbesserten sich schon bei einem geringen Einsatz von SM das Immunsystem, der Fettstoffwechsel, die Darmfunktion und die Stressresistenz. Saxena et al. (1983) und Rajesha et al. (2011) haben eine Steigerung des Futtermittels, der Lebendmasse (LM), der Anzahl an Eiern und der Pigmentierung des Eidotters nachgewiesen. Der Cholesteringehalt von Eiern konnte nach Sujatha und Narahari (2011) reduziert werden. Milchkühe, die SM in der Futtermischung erhielten, erhöhten ihre Milchproduktion und hatten einen höheren Fett-, Protein- und Laktosegehalt in der Milch (Šimkus et al., 2007; Šimkus et al., 2008; Kulphys et al., 2009).

3.5.1 Futtermittelrechtliche Regelungen

Nach Richtlinie 98/67/EG der Kommission vom 07.09.1998 und der Verordnung (EU) Nr. 68/2013 der Kommission vom 16.01.2013 sind Spirulina-Algen als Einzelfuttermittel zur Fütterung landwirtschaftlicher Nutztiere zugelassen. Bezüglich der Blaugrün-Algen der Gattung Spirulina gelten laut POSITIVLISTE FÜR EINZELFUTTERMITTEL 2017 folgende Bedingungen:

- sie müssen unter kontrollierten Bedingungen in natürlichen alkalischen ungedüngten Seen oder in offenen Kultivierungsanlagen (Raceway-Ponds) mit definierten Nährlösungen erzeugt werden,
- sie können gewaschen sein, und es dürfen keine Stoffe außer Wasser entzogen werden,
- toxinbildende Algen und deren Toxine dürfen nicht nachweisbar sein.

Ferner sind nachstehende Anforderungen zu erfüllen:

- Rohasche max. 9 %, Rohprotein min. 50 %, Rohfett min. 4 %,
- cyanobakterielle Toxine dürfen nicht nachweisbar sein (Microcystine < 0,4 µg/g),
- die Kennzeichnung der Inhaltsstoffe muss mit den Gehalten an Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Rohasche und Wasser (wenn > 8 % v.H.) deklariert werden.

3.5.2 Geflügelmast

Bisher wurden einige Fütterungsversuche mit Geflügel durchgeführt, weil die Verabreichung von SM in den Futterrationen vielversprechende Perspektiven für den Einsatz der Spirulina-Algen in der kommerziellen Tierernährung bringen soll (Becker, 2007). Im Gegensatz zu anderen Nutztieren dauert die Mast von Geflügelarten nur wenige Wochen. Bereits einige Studien haben den Einsatz von Mikroalgen (Spirulina) zum Gegenstand gehabt. Die Ergebnisse und die Einsatzmöglichkeiten sind teils sehr unterschiedlich und widersprüchlich. Ross und Dominy (1990) sowie Evans et al. (2015) berichteten bei einer Einsatzhöhe von mehr als 20 % SM von Akzeptanzproblemen und Wachstumsdepressionen. Bis zu einer Einsatzhöhe von 15 % zeigten sich keine negativen Einflüsse. Laut Brune (1982) kam es zu keinen relevanten Wachstumsdepressionen bis zu einem Einsatz von 28,6 %. Venkataraman et al. (1994) sprachen bei einem Einsatz von 17 % SM in der Mischung sogar von besseren Wachstumsleistungen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Nach Spolaore et al. (2006) können in der Geflügelernährung herkömmliche Proteine durch SM zu 5 - 10 % ausgetauscht werden. Einen Überblick der durchgeführten Versuche zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7: Übersicht zu Versuchen mit Spirulina in Geflügelmischungen

Einsatzhöhe	Tiere und Versuchsaufbau	Ergebnisse	Literaturquelle
27,4 und 28,6 %	Broiler, 8. - 42. LT zootechnische Parameter, 27,4 % (entfettetes SM), 28,6 % (nicht entfettetes SM)	Nach erstem Mastabschnitt (26. LT) keine Unterschiede; nach Versuchsabschnitt zwei, Minderzunahme von dem nicht entfetteten SM im Vergleich zur Kontrollgruppe, aber nicht von dem entfetteten SM zur Kontrollgruppe	Brune (1982)
6; 11; 16; 21 %	Broiler, 1. - 21. LT Wachstum und Gehalt der verdaulichen Aminosäuren	Einsatzhöhe bis 16 % zeigt keine Unterschiede im Wachstum zur Kontrolle, Verdaulichkeit von Methionin in SM-Mischungen ist signifikant höher als in der Kontrolle	Evans et al. (2015)
14 und 17 %	Broiler, 28. - 112. LT zootechnische Parameter und histologische Untersuchungen	Keine Effekte auf die zootechnischen Parameter, intensivere Fleischfarbe	Venkataraman et al. (1994)
5,6; 11,1; 16,6 %	White Leghorn-Hähnchen, zootechnische Parameter	11,1 und 16,6 % SM ergaben eine signifikant höhere LM im Vergleich zur Kontrolle; tendenziell höhere FI und verbesserter FA mit steigender Einsatzhöhe von SM	Saxena et al. (1983)
5; 10; 15 %	Broiler, 6. - 34. LT zootechnische Parameter und Umsetzbarkeit der Bruttoenergie in der Mischung	10 % und 15 % SM bewirken signifikant geringere LMZ, signifikant höherer FA bei 15 %, keine Unterschiede in der Konzentration der Bruttoenergie in den Mischungen	Gongnet et al. (2001)
1,5; 3; 6; 12 %	Hähnchen, 1. - 41. LT zootechnische Parameter	Keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle	Ross und Dominy (1990)
4 und 8 %	Broiler, 21. - 37. LT Wachstum und Farbe von Muskeln	Keine Effekte der SM-Menge auf die Wachstumsleistung, die Pigmente (gelb) von Fett, Haut, Muskeln und Leber sind mit steigender Einsatzhöhe gestiegen	Toyomizu et al. (2001)
1,25; 2,5; 5,0 %	Broiler, 1. - 56. LT Mast- und Schlachtleistung	Mastleistung: keine Unterschiede bis 5 % Einsatzhöhe; je höher der SM-Einsatz desto höher war die Schlachtkörpermasse und die Schlachtausbeute	Bellof und Carrasco Alarcón (2013)
1,0; 2,5; 5,0 %	Broiler, 1. - 38. LT zootechnische Parameter und Fleischqualität	Keine Unterschiede in LM, täglicher LMZ und FI, signifikant geringere Futtermittelverwertung bei 1,0 % und 2,5 % SM, bei 2,5 % und 5 % Einsatz intensivere Fleisch- und Hautfarbe	Raach-Moujahed et al. (2011)
0,5; 1,0; 1,5 %	Broiler, 1. - 21. LT zootechnische Parameter und histologische Untersuchungen	Positiver Effekt bei 1 % SM auf Zunahme, Futtermittelverwertung und Zottenlänge	Shanmugapriya et al. (2015)

Hohe Einsatzmengen an SM in Futtermischungen für Broiler sind selten, wurden aber bereits vor einigen Jahrzehnten geprüft. Brune (1982) führte Fütterungsversuche an Broilern mit der Einzelleralge *Spirulina maxima* als alleinige Eiweißquelle durch. Das SM stammte aus Mexiko, und seine Art der Kultivierung blieb unbekannt. Es wurden Versuche mit nicht-entfettetem SM und einer entfetteten Variante durchgeführt. Dazu wurde ein Teil des SM mit Methylenchlorid erschöpfend bei Zimmertemperatur extrahiert, so dass nur geringe Lipidgehalte verblieben. Die Nährstoffgehalte des nicht-entfetteten SM setzten sich in der TS wie folgt zusammen: Rohprotein (XP) 65,29 %, Rohasche (XA) 6,36 % und Rohfett (XL) 6,07 %. Bei dem entfetteten SM lagen die Nährstoffgehalte in der TS bei: XP 70,80 %, XA 6,83 % und XL 0,14 %. Die zwei Versuchsmischungen enthielten zu einem das nicht-entfettete SM und zum anderen das entfettete SM. Sie bestanden aus dem nicht-entfetteten SM (28,60 %) bzw. entfettetem SM (27,40 %), Maisquellstärke (54,47 % bzw. 55,67 %), Biskin (4 %), Sonnenblumenöl (4 %), Vitaminmischung (2 %), Mineralmischung (6,64 %), Met (0,168 %) und Natrium (0,125 %). Die Nährstoffgehalte der beiden Futtermischungen (in % der TS) sah für das nicht-entfettete bzw. entfettete SM wie folgt aus: XP-Gehalt (19,20 bzw. 19,00), XA-Gehalt (6,87) und XL-Gehalt (11,11 bzw. 9,48), wobei sich ein Energiegehalt von 19,13 (nicht-entfettet) bzw. 18,86 (entfettet) kJ/g ergab.

In einem Wachstumsversuch von Evans et al. (2015) mit Broilern (Hubbard x Cobb 500) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der End-LM, der LMZ und dem Futtermittelverzehr zwischen der Kontrollgruppe und Tieren, die 16 % SM in der Futtermischung erhielten. Bei einer Einsatzhöhe von 21 % SM war die Wachstumsleistung der Tiere signifikant beeinträchtigt. Keine signifikanten Unterschiede konnten in Bezug auf den Futteraufwand (FA) und die Mortalitätsrate beobachtet werden. Es gab fünf Futtermischungen, davon eine Kontrollmischung sowie vier SM-Mischungen mit einem SM-Anteil von 6 %, 11 %, 16 % und 21 %. Der Anteil an SES wurde jeweils durch SM ersetzt. Die Art der Spirulina war unbekannt. Die Spirulina-Algen wurden in Open Ponds kultiviert, es handelte sich um ein getrocknetes Produkt ohne Fettextraktion aus Kalifornien. Der XP-Gehalt des SM lag bei 76 %, und der XL-Gehalt wies 4,95 % auf. Die Kontrollmischung bestand aus Mais (54,5 %), SES (31,6 %), Weizengrieskleie (4,9 %), Öl (4,2 %), Dicalciumphosphat (1,7 %), Kalk (1,38 %), DL-Met (0,3 %), L-Lys (0,3 %), Titandioxid (0,2 %), L-Thr (0,1 %), Salz (0,3 %) und Natron (0,2 %). Die Bestandteile der Kontrollmischungen waren in allen vier experimentellen Mischungen vorhanden und wurden je nach Austauschrate des SM in ihren Anteilen verschoben. Die Anteile an Mais und Lys nahmen mit steigendem Einsatz von SM

zu, während die Anteile von SES, Öl, Kalk, Dicalciumphosphat, Met, Thr, Salz und Natron mit steigendem Einsatz von SM abnahmen.

Nach Venkataraman et al. (1994) kam es beim Einsatz von bis zu 17 % SM in den Futtermischungen zu keinen Leistungseinbußen. Es wurde der Ersatz von Erdnusskuchen und Fischmehl durch SM (*Spirulina platensis*) in Futtermischungen für Broiler über eine Zeitspanne von 12 Wochen untersucht. Es gab eine Kontrollmischung sowie zwei experimentelle Versuchsmischungen mit 17 % bzw. 14 % SM in den Mischungen. Der Versuch brachte die Erkenntnis, dass der isonitrogene Austausch ohne Leistungseinbußen verlief. Die SM-Anteile wurden während der Mastdauer von 17 % (Starter) auf 12,8 % (Finisher) bzw. 14 % (Starter) auf 12% (Finisher) reduziert. Ein Einsatz von 17 % SM führte sogar zu einer signifikant höheren LMZ im Vergleich zur Kontrollgruppe. Eine intensivere Pigmentierung von Haut, Brust-, Schenkelmuskulatur und Depotfett wurde festgestellt, wobei die sensorischen Eigenschaften des Fleisches und damit die Fleischqualität nicht beeinflusst wurden. Die Pigmentierung wurde von den Autoren mit dem hohen Carotinoidgehalt im SM erklärt. Die Spirulina-Alge stammte aus Indien und wurde dort in Open Ponds kultiviert und sonnengetrocknet. Der XP-Gehalt des SM lag bei 62,5 % (in TS) und der XL-Gehalt bei 3,0 % (in TS). Der Hauptbestandteil aller drei Startermischungen war Mais (47 %). Die Mischungen der Kontrolle (K) und SM (14 %) enthielten 15 % Reiskleie, die Mischung SM (17 %) enthielt 20 % Reiskleie. Der Anteil an Erdnusskuchen lag bei der Mischung K und SM (14 %) bei 22 %, die Mischung SM (17 %) hingegen enthielt keine Erdnusskuchen. Fischmehl machte einen Anteil von 14 % in der Mischung K und SM (17 %) aus. In Mischung SM (14 %) kam kein Fischmehl zum Einsatz. Alle Mischungen enthielten zu gleichen Teilen Muschelgrit (1,5 %) und Seesalz (0,25 %). Ausschließlich die Kontrollmischung bekam zusätzlich ein Mineral-/Vitaminmix (0,25 %). Der XP-Gehalt der Startermischungen lag bei 23,1 % und bei den Finishermischungen bei 20,3 %. In den Finishermischungen waren die Bestandteile analog zu den Startermischungen.

Zu ähnlichen Erkenntnissen kamen Saxena et al. (1983). Sie führten Wachstumsversuche mit White Leghorn-Hähnchen durch, dabei ersetzte *Spirulina platensis* teilweise den Proteinlieferanten Erdnusskuchen, so dass der Algenanteil 5,6 %, 11,1 % oder 16,6 % der Futtermischung betrug. Die Einsatzhöhe von 11,1 % und 16,6 % SM führte zu einer signifikanten Erhöhung der LM im Vergleich zur Kontrollgruppe und der Gruppe mit einer Einsatzhöhe von 5,6 % SM. Numerisch stieg der Futtermittelverzehr mit steigender Einsatzhöhe von SM, und es verbesserte sich in der Tendenz der FA. Das SM stammte aus Indien. Es

wurde dort in Open Ponds in heimischem Abwasser kultiviert, durch einfache Filtration gewonnen und sonnengetrocknet. Der XP-Gehalt des SM betrug 50 - 55 % (in TS), der XA-Gehalt 8,5 - 9,9 % (in TS) und der XL-Gehalt 6,5 - 9,0 % (in TS). Die Kontrollmischung basierte auf Erdnusskuchen mit einem Proteinanteil von 38 %. Sie war wie folgt zusammengestellt: Mais (40,0 %), Erdnusskuchen (24 %), Reiskleie (19,0 %), Fleisch- und Knochenmehl (10,0 %), Melasse (4,5 %) und eine Vitamin- und Salzmischung (2,5 %).

In einem weiteren Wachstumsversuch wurde gezeigt, dass ein Einsatz ab 10 % SM in Futtermischungen zu verschlechterten Wachstumsparametern führt. Gongnet et al. (2001) ersetzten die Proteinquelle SES teilweise durch *Spirulina platensis*. Die Versuchsdauer der ROSS-Broiler erstreckte sich vom 6. bis zum 34. Lebenstag (LT). Die Futtermischungen hatten einen Anteil an SM von 0 %, 5 %, 10 % oder 15 %. Die FI reduzierte sich mit steigender Konzentration des SM im Futter, ab 15 % sogar signifikant zur Kontrollgruppe. Auch die täglichen Zunahmen sanken mit steigendem Anteil an SM, ab 10 % signifikant. Den geringsten Futtermittelverzehr wiesen die Tiere mit einem Fütterungsanteil von 15 % SM auf. Das SM stammte aus dem Tschadsee in Afrika und wurde sonnengetrocknet. Der XP-Gehalt lag bei 42,3 %, der XA-Gehalt bei 34,4 % und der XL-Gehalt bei 4,2 %. Die Kontrollmischung bestand zu 38 % aus SES, Mais (33,3 %), Weizenstärke (16,3 %), Silicagel (3,5 %), L-Val (0,5 %), L-Met (2,0 %), Öl (2,9 %), Premix (1,0 %), Calciumcarbonat (1,7 %) und Monocalciumphosphat (0,8 %). Die Anteile an Met, Mais, Öl, Premix, Calciumcarbonat und Monocalciumphosphat waren in allen Mischungen identisch. Die restlichen Anteile wurden je nach Austauschniveau des SM angepasst. Die Proteingehalte der Futtermischungen lagen zwischen 22,4 und 23,3 % (in TS). Die Energiegehalte der Mischungen lagen zwischen 18,46 und 18,51 MJ/kgTS.

In einem Experiment von Ross und Dominy (1990) wurde SES in der Futtermischung für Hubbard-Broiler durch das Mehl von *Spirulina platensis* ersetzt. Das SM wurde in Open Ponds kultiviert, geerntet, gewaschen (um Fremdmaterial und Salz zu entfernen) und bei 100°C für 4 Stunden getrocknet. Der XP-Gehalt lag bei 60,5 %, der XA-Gehalt bei 6,9 % und der XL-Gehalt bei 0,95 %. Die Futtermischungen enthielten 0 %, 1,5 %, 3 %, 6 % oder 12 % SM. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der End-LM, Mortalität und beim FA der Tiere. Broiler, die 12 % SM in der Futtermischung über 41 Tage erhielten, wuchsen dennoch langsamer als Broiler mit einer geringeren Konzentration an SM in der Futtermischung. Alle fünf Mischungen bestanden zu gleichen Teilen aus Thunfischmehl (5 %), Luzerne (3 %), Fleisch- und Knochenmehl (2,5 %), Dicalciumphosphat (2 %),

Spurenelemente (0,3 %), Vitamine (0,03 %), Cholinchlorid (0,05 %). Durch den Austausch von SES durch SM erfolgte eine Anpassung von SES, Mais, Talg, DL-Met und L-Lys. Der Energiegehalt aller Mischungen war identisch (3145 kcal ME/kg). Der XP-Gehalt der Mischungen lag zwischen 22,0 % und 22,5 %. In einem weiteren Experiment von Ross und Dominy (1990) mit White Leghorn-Hähnchen wurde SES durch 5 %, 10 %, 15 % oder 20 % ersetzt. Die Einsatzhöhe des Algenmehls von 20 % der Futtermischung führte zu signifikant geringeren LM. Bezüglich des FA gab es keine Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen. Alle fünf Mischungen enthielten zu gleichen Teilen Thunfischmehl (5 %), Luzerne (3 %), Fleisch- und Knochenmehl (2,5 %), Dicalciumphosphat (2 %), Spurenelemente (0,3 %), Vitamine (0,03 %), Cholinchlorid (0,05 %). Durch den Austausch von SES durch SM erfolgte eine Anpassung von SES und Mais. DL-Met und L-Lys wurden nur in der Mischung mit 20 % SM hinzugefügt. Der Energiegehalt aller Mischungen war identisch (2950 kcal ME/kg). Der XP-Gehalt in den Mischungen lag zwischen 22,7 % und 21,1 %.

Bei einem geringeren Einsatz von bis zu 8 % SM in Futtermischungen konnten keine signifikanten Effekte auf die Wachstumsleistung der Broiler festgestellt werden. Toyomizu et al. (2001) verfütterten Konzentrationen von 0 %, 4 % und 8 % *Spirulina platensis* über eine Versuchsdauer von 16 Tagen an Broiler, ohne Unterschiede zwischen den LM und Gewichte von Leber, Abdominalfett, Nieren und innerer Brustmuskel (*pectoralis profundus*) festzustellen. Das SM stammte aus Japan. Es wurde herkömmlich in Open Ponds-Systemen massenkultiviert und sprühgetrocknet. Die drei Versuchsmischungen enthielten identische Rohprotein- (22 %) und Energiegehalte (13,3 MJ/kg). In den Mischungen waren die Bestandteile an gemahlenem Mais (45 %), Gerste (10 %), Fischmehl (4 %), Fleisch- und Knochenmehl (3,66 %), Pflanzenöl (2 %), Spurenelemente (0,4 %) und Vitamine (0,4 %) identisch. Die SM-Mischungen enthielten weniger SES (0 % SM = 24,7 %, 4 % SM = 18 %, 8 % SM = 11 %) und mehr Rapsschrot (0 % SM = 3 %, 4 % SM = 4,7 %, 8 % SM = 6,2 %). Die SM-Mischungen enthielten zusätzlich Zellulose, und es erfolgte eine Anpassung in allen Mischungen mit Talg, L-Thr, L-Lys, DL-Met, Calciumphosphat, Calciumcarbonat und Viehsalz.

Betrachtet man die Wirtschaftlichkeit des Einsatzes von *Spirulina platensis* in der ökologischen Broilermast, kamen Bellof und Carrasco Alarcón (2013) zu dem Entschluss, einen maximalen Anteil von 5 % SM in der Futtermischung zu verwenden. Broiler, die über eine Versuchsdauer von 56 Tagen 5 % SM in der Aufzucht und 2,5 % SM in der Mast im

Futter erhielten (153 g pro Tier absolut), hatten die höchste FI und den geringsten FA. Die erhöhte Zulage von *Spirulina platensis* in der Futtermischung führte zu einem positiven Effekt auf die LM und die Schlachtausbeute. Das verwendete SM enthielt 60,0 % XP, 8,0 % XA sowie 6,0 % XL. Herkunft und Kultivierungsweise des SM waren unbekannt. Die Kontrollmischung der Aufzuchtphase besaß folgende Bestandteile: Sojakuchen (26,3 %), Weizen (24 %), Mais (21,5 %), Leinkuchen (12,0 %), Sonnenblumenkuchen (8,0 %), Maiskleber (2,5 %), Rapsöl (2,0 %) und eine Mineralfuttermischung (3,7 %). In den Versuchsmischungen wurde der Sojakuchen durch SM wie oben beschrieben teilweise ausgetauscht.

Es gab zudem einige Studien, die sich mit einer geringen Einsatzhöhe von SM in den Futtermischungen beschäftigten. Den Einfluss steigender Konzentrationen an SM in den Futtermischungen (0 %, 1 %, 2,5 % bis 5 %) untersuchten Raach-Moujahed et al. (2011) auf die Wachstumsleistung und die Fleischqualität von Arbor Acres-Broiler. Die Versuchsdauer betrug 38 Tage (1. LT bis 38. LT). Es gab keine signifikanten Effekte bezüglich der End-LM, der täglichen LMZ und der FI zwischen allen Gruppen. Die Futtermittelnutzung war signifikant in den Gruppen mit 1 % und 2,5 % SM reduziert. Die Kultivierungsweise und die Herkunft des SM waren unbekannt. Der XP-Gehalt lag bei 57 %, der XA-Gehalt bei 15,6 % und der XL-Gehalt bei 3,2 %. Die Starterkontrollmischung bestand aus Mais (64 %), SES (32 %) und einer Mineral- und Vitaminmischung (4 %). Der Anteil an Mais und SES variierte in den experimentellen Mischungen je nach Austauschrate des SM. Die Startermischungen bewegten sich beim XP-Gehalt zwischen 20,3 und 20,9 % und beim Energiegehalt zwischen 2890 und 2906 kcal ME/kg. Die Growermischungen wiesen einen XP-Gehalt zwischen 20,8 und 21,2 % und einen Energiegehalt zwischen 2930 und 2942 kcal ME/kg auf.

Den Einsatz von *Spirulina platensis* als gesundheitsfördernden Zusatzstoff auf die Wachstumsleistungen und die histologischen Parameter untersuchten Shanmugapriya et al. (2015). Die Broiler (Ross 308) bekamen Futtermischungen mit 0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 % *Spirulina platensis*. Die LMZ und die Zottenlänge erhöhten sich signifikant bei einem Einsatz von 1 % SM in der Mischung im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auch der FA sank signifikant bei einer Konzentration an SM von 1 % in der Futtermischung.

3.5.3 Schweinemast

Fütterungsversuche mit *Spirulina platensis* sind im Schweinebereich überschaubar. Die Einsatzhöhen sind meist sehr gering und gehen oft nur einem gesundheitsfördernden Aspekt nach. Tabelle 8 gibt eine Übersicht der in der Literatur beschriebenen Fütterungsversuche mit SM in der Ferkel- und Schweinemast wieder.

Gesundheitsfördernde Effekte durch den geringen Einsatz von SM wurden von Nedeva et al. (2014) untersucht. Die Autoren ermittelten beim Einsatz von *Spirulina platensis* in Futtermischungen bei wachsenden Schweinen die Produktivität und einige Blutparameter. Bei einer Menge von 2 - 3 g SM pro Tag verbesserte sich die Wachstumsintensität signifikant um 12,5 % bis 14,25 %, der Futterverbrauch verringerte sich ebenfalls signifikant. Das SM stammte aus Litauen, die Kultivierungsweise blieb unbekannt.

Eine Menge von 2 g frischer Spirulina-Alge (*Spirulina platensis*) pro Tag verfütterten Šimkus et al. (2013) an wachsende Schweine. Die Tiere waren 85 Tage alt und hatten eine mittlere LM von 31 kg. Die Mastschweine wurden bis zum Erreichen von 100 kg LM gemästet. Es gab zwei Versuchsgruppen, davon eine Kontrollgruppe und eine experimentelle Versuchsgruppe mit jeweils 16 Tieren. Die Versuchstiere, die zusätzlich Spirulina-Algen verabreicht bekamen, erreichten die LM von 100 kg früher. Die LMZ war um 9,26 % höher im Vergleich zur Kontrolle. Einen numerischen Unterschied gab es auch im Energieaufwand zu verzeichnen, der tendenziell in der Kontrollmischung erhöht war. Der Energie- und Proteingehalt der Versuchsmischungen war identisch. Die Kultivierungsweise, Herkunft und Nährstoffzusammensetzung wird durch Šimkus et al. (2013) nicht beschrieben.

Martinavičius (2008) führte Fütterungsexperimente mit Mastschweinen durch. Im ersten Experiment waren die Tiere ca. 80 Tage alt und hatten eine mittlere LM von etwa 30 kg. Die Mastschweine wurden ca. 13 Wochen gemästet. Es gab zwei Fütterungsgruppen, davon eine Kontrollgruppe und eine Versuchsgruppe, die zusätzlich 2 g SM pro Tag bekam. Die Tiere, die mit SM gefüttert wurden, hatten tendenziell höhere tägliche Zunahmen sowie eine höhere Verdaulichkeit von Fett, organischer Substanz und Protein. In einem weiteren Versuch wurden 1,5 g SM pro Tier und Tag verfüttert. Die Tiere waren ca. 77 Tage alt und wiesen eine mittlere LM von etwa 30 kg auf. Die XP-Verdaulichkeit verbesserte sich durch den Einsatz von SM signifikant. Die genaue Gestaltung der Futtermischungen sowie Kultivierung und Herkunft der Spirulina blieben unbekannt.

Tabelle 8: Übersicht zu Versuchen mit Spirulina in Schweinemischungen

Einsatzhöhe	Tiere und Versuchsaufbau	Ergebnisse	Literaturquelle
3,0 g pro Tier und Tag	Ferkel (LM 12,2-14,5 kg) Mastdauer: 47 Tage	Signifikant bessere FI und LMZ, tendenziell verbesserte Futtermittelverwertung	Nedeva et al. (2014)
2,0 g pro Tier und Tag	Schweine (85. LT, LM 31 kg) Mastdauer bis 100 kg LM	LMZ: +9,26 % höher und Energieaufwand geringer	Šimkus et al. (2013)
2,0 g pro Tier und Tag	Schweine (80. LT, LM 30 kg), Mastdauer: 13 Wochen	Tendenziell bessere tägliche LMZ und gesteigerte TM,-XP- und XL -Verdaulichkeit	Martinavičius (2008)
1,5 g pro Tier und Tag	Schweine (77. LT, LM 30 kg), Mastdauer: 13 Wochen	Signifikant verbesserte XP-Verdaulichkeit, tendenziell bessere Energieverwertung und höhere tägliche LMZ	Martinavičius (2008)
0,2; 0,5; 2,0 %	Frühabsetzferkel (11.-12. LT, LM 3,7 kg.) Mastdauer: 6 Wochen	Signifikant verbesserte tägliche LMZ	Grinstead et al. (2000)
0,1; 0,2 %	Frühabsetzferkel (18. LT, LM 5,6 kg.) Mastdauer: 6 Wochen	Keine signifikanten Unterschiede bei den LMZ, der FI und der Futtermittelverwertung, am Ende der Mast signifikant bessere Futtermittelverwertung	Grinstead et al. (2000)
4; 3; 2,5 %	Ferkel und Mastschweine: LM von 20,9 bis 105 kg; Mastdauer: 87 Tage	Keine signifikanten Unterschiede bei den Wachstumsparametern	Saeid et al. (2013)
9 % (entspricht 32 % des Gesamtproteins der Diät)	Ferkel im Alter von 3 bis 4 Wochen	Keine signifikanten Unterschiede bei den Wachstumsparametern	Hugh et al. (1985)
33 % des gesamten Proteingehaltes der Diät	Ferkel im Alter von 4-8 Tagen, Mastdauer: 15 und 26 Tage	Keine signifikanten Unterschiede in den Parametern: Wachstum, Durchfallgeschehen und Futterakzeptanz	Yap et al. (1982)
8,0 und 12 %	12 Tage alte Absetzferkel, Mastdauer: 30 Tage	Keine signifikanten Unterschiede im Wachstum, tendenziell geringere Verdaulichkeit	Février und Sève (1976)

Geringe Einsatzhöhen von SM in Futtermischungen wurden von Grinstead et al. (2000) in einer Studie veröffentlicht, in der verschiedene Konzentrationen an *Spirulina platensis* und verschiedene Arten der Futterbeschaffenheit (pelletiert und mehlartig) an Absetzferkeln

untersucht wurden. Im Experiment 1 kamen Futtermischungen mit 0, 2, 5 und 20 g SM pro kg Futter von Tag 0 - 14 nach dem Absetzen in pelletierter Form zum Einsatz. Es gab keine Unterschiede in den Wachstumsparametern zwischen den Gruppen. Von Tag 14 - 28 nach dem Absetzen wurden den Tieren die gleichen Rationen in gemahlener Form verabreicht. Schweine, die 2 und 20 g SM pro kg Futter bekamen, zeigten eine signifikant bessere Futtermittelnutzung und höhere tägliche Zunahmen als die Kontrollgruppe. In Experiment 2 wurden 0, 1 und 2 g SM/kg eingesetzt. Von Tag 0 - 14 nach dem Absetzen waren keine Unterschiede in den Wachstumsparametern sichtbar. Von Tag 14 - 28 und von Tag 0 - 28 nach dem Absetzen verbesserte sich die Futtermittelnutzung mit dem Einsatz von SM signifikant. Experiment 3 untersuchte, ob die Beschaffenheit des Futters einen Einfluss auf die zootecnischen Parameter hat. Dazu wurden die Ferkel 28 Tage mit 0 oder 2 g SM pro kg Futter entweder mit pelletiertem oder mehlartigem Futter gefüttert. Über die gesamte Versuchsperiode gab es keine signifikanten Unterschiede. Herkunft und Kultivierungsweise der Spirulina-Alge waren nicht bekannt. Das verwendete SM enthielt 62,0 % XP (in FS) und 5,5 % XL (in FS). Das SES wurde in den Mischungen jeweils durch die Anteile von SM ersetzt. Die Futtermischung von Tag 0 - 7 sah wie folgt aus: Mais (33,6 %), Molkenpulver (25,0 %), SES (12,47 %), sprühtrocknetes tierisches Plasma (6,7 %), Fischmehl (6,0 %), Sojaöl (6,0 %), Laktose (5,0 %), sprühtrocknetes Blutmehl (1,75 %), Antibiotikum (1,0 %), Monocalciumphosphat (0,76 %), Kalk (0,48 %), Zinkoxid (0,38 %), Premix (0,4 %), Salz (0,2 %), L-Lys (0,15 %) und DL-Met (0,15 %).

Einen höheren Einsatz von SM (*Spirulina maxima*), welches mit Spurenelementen durch Biosorption angereichert war, untersuchten Saeid et al. (2013) in Futtermischungen für Ferkel und Mastschweine. Die Kontrollgruppe und die experimentelle Versuchsgruppe bestanden jeweils aus 12 Tieren. Das Experiment startete mit einer LM der Tiere von 20,9 kg \pm 2,2 kg und dauerte 87 Tage bis zum Erreichen einer LM von 105 kg. Dabei wurden in der experimentellen Mischung von Versuchsabschnitt 20 - 40 kg LM 4 % SM, von Versuchsabschnitt 40 - 65 kg/LM 3 % SM und von Versuchsabschnitt 65 - 105 kg LM 2,5 % SM eingesetzt. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Wachstumsparametern zwischen der experimentellen Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe. Die Spirulina-Alge wurde in einem Kesselreaktor mit Rührwerk, der durch ein Gewächshaus abgedeckt war, mit künstlicher Beleuchtung kultiviert und durch Biosorption mit Spurenelementen angereichert. Die Hauptbestandteile der Futtermischungen waren gemahlener Weizen, gemahlene Gerste und SES sowie Sojaöl und Säuerungsmittel.

Studien mit höheren Einsatzmengen von Mikroalgenmehl in Futtermischungen für Ferkel wurden bereits in den 70-er Jahren durchgeführt. Février und Sève (1976) führten einen Fütterungsversuch mit 12 Tage alten Absetzferkeln durch. Das in der Futtermischung enthaltene Magermilchpulver wurde im Alter von 12 bis 21 Tagen durch SM (*Spirulina maxima*) ersetzt. Die Mischung enthielt 12 % *Spirulina maxima* (25 % des gesamten XP). Im Alter von 21 bis 42 Tagen wurde *Spirulina maxima* in einem Anteil von 8 % in der Futtermischung als Ersatz des SES verabreicht. Obwohl die Verdaulichkeit der Futtermischungen bei Einarbeitung von SM etwas unterlegen war, wiesen die Tiere aller Gruppen Wachstumsdaten auf vergleichbarem Niveau auf. Février und Sève (1976) stellten fest, dass die metabolische Verwertung der Futtermischung in der Spirulinagruppe besser war als in der Kontrollgruppe, insbesondere im Zeitraum zwischen 12 und 21 Tagen, obwohl der Lys-Gehalt in der Spirulinagruppe 12 % niedriger lag.

In einem weiteren Experiment ersetzten Yap et al. (1982) die Hälfte des SES (33 % des gesamten Proteingehaltes) in einer Futtermischung, die auf Mais, SES und Trockenmagermilch basierte, durch Algenproteine (*Spirulina maxima*, *Spirulina platensis* und *Chlorella sp.*). Der Versuch wurde mit Yorkshire-Absetzferkeln im Alter von 4 bis 8 Tagen durchgeführt. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollmischung und den experimentellen Futtermischungen während der 15-tägigen und 26-tägigen Versuchsperioden bei den Parametern Wachstum, Durchfall und Futterakzeptanz. Die Forscher folgerten, dass mindestens die Hälfte des Proteins von SES durch Algen ohne nachteilige Wirkungen austauschbar ist.

Einen ähnlich hohen Gehalt an SM in Futtermischungen setzten Hugh et al. (1985) ein. Sie verabreichten bis zu 9 % (0; 1,5; 3; 6 und 9 %) getrocknetes SM (*Spirulina platensis*) als Proteinersatz für SES in Schweinemischungen, die bis zu 32 % des gesamten Rohproteins der Diät umfassten. Die Wachstumsdaten der 3 bis 4 Wochen alten Kreuzungsabsetzferkeln waren zufriedenstellend.

Erkenntnisse aus der Literatur und Forschungsansatz

Die Literaturübersicht zeigt, dass die Einsatzmenge von SM in Futtermischungen für Broiler, Ferkel und Mastschweine bisher gering waren. Ebenso ist erkennbar, dass die Variabilität der Nährstoffe in den Spirulina-Algen je nach Art, Kultivierung und Verarbeitungsprozess hoch ist. Konkrete Empfehlungen zur Höhe des Einsatzes von SM in der Monogastridenernährung wurden nicht gefunden. Untersuchungen zur Verdaulichkeit des SM beim Einsatz in Futtermischungen für Broiler und Mastschweine sind in der Literatur sehr vage bis nicht vorhanden. Befunde zur Proteinqualität von Futtermischungen mit einem hohen Einsatz an SM, bemessen an Ganzkörperanalysen oder N-Bilanzstudien, sind in der Literatur nicht zu finden. Dies gilt auch für Aufwandskennzahlen – wie Protein- und Energieaufwand – von Broilern und Schweinen, die SM in den Futtermischungen erhielten.

Aufgrund der in der Literatur gewonnenen Erkenntnisse über den Einsatz von SM in der Geflügel- und Schweineernährung war die experimentelle Versuchszielstellung – wie in Kapitel 2 beschrieben – den Proteinträger SES mit gestaffelten Anteilen (50 %, 75 % und 100 %) durch Algenmehl von *Spirulina platensis* mit unterschiedlichem Ergänzungsniveau an kristallinen AS zu ersetzen. Dabei sollten das Potenzial aber auch die Grenzen des SM bei unterschiedlichem AS-Angebot aufgezeigt werden. Dazu wurden jeweils parallele Wachstums- und N-Bilanzstudien mit Broilern, Ferkeln und Mastschweinen durchgeführt. Die Erfassung der konkreten Parameter zur Zielbestimmung ist Kapitel 2 (Zielstellung) zu entnehmen.

4 Material und Methoden

In diesem Kapitel sollen die angewandten Materialien und Methoden veranschaulicht werden. Ergänzende und weiterführende Darstellungen und Aspekte sind den Publikationen **I**, **II** und **III** (Kapitel 13 Anhang Publikationen) zu entnehmen. Es erfolgt eine detaillierte Darstellung des Versuchsaufbaues, um einen Überblick über die insgesamt durchgeführten Untersuchungen zu zeigen. Hierbei wird auf die Charakterisierung der Proteinquellen sowie die Beschreibung des verwendeten Tiermaterials, der Tierhaltung, der Versuchsdurchführung, der Fütterung, der Versuchsdäten, der Analysen des Probenmaterials und der statistischen Auswertungsmethoden eingegangen.

4.1 Versuchsaufbau

Als Teil des interdisziplinären Projektes „Sustainability Transitions: in der Lebensmittelproduktion“ war der teilweise Ersatz des traditionell eingesetzten SES durch teilweise entfettetes Insektenlarvenmehl von *Hermetia illucens* (HM) oder SM der Untersuchungsgegenstand. Das komplexe Versuchsdesign umfasste beide alternativen Proteinquellen. Die daraus entstandenen Publikationen und statistischen Auswertungen beinhalten deshalb beide alternativen Proteinquellen. Die vorliegende Dissertation stellt allerdings nur die Proteinquellen *Spirulina platensis* und SES in den engeren Fokus. Innerhalb dieses Projektes wurden mehrere Versuche an Masthühnern, Ferkeln und Mastschweinen durchgeführt (Übersicht in Tabelle 9 und 12). Die Tabellen liefern ausgewählte Angaben zu den durchgeführten Wachstums- und Bilanzversuchen mit Masthähnchen, Ferkeln und Mastschweinen, wobei auf die Versuchsdauer, Anzahl der Tiere und Gruppen sowie die dazugehörigen Wiederholungen der Gruppen eingegangen wird.

In den Tabellen 10 (Wachstumsversuche Broiler) und 11 (N-Bilanzmessungen Broiler) sowie 13 (Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine) und 14 (N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine) ist der detaillierte Versuchsaufbau der jeweiligen Versuchsabschnitte dargestellt. Der Versuchsaufbau zielte darauf ab, SES in den Mischungen gestaffelt durch HM oder SM bei unterschiedlichem AS-Angebot zu ersetzen. Bei den N-Bilanzmessungen wurde SES zu 100 % durch HM oder SM eingetauscht. Durch die gestaffelten Austauschraten sollte das Potenzial und die Grenzen der jeweiligen alternativen Proteinquelle getestet werden. Insgesamt wurden drei kombinierte Wachstumsversuche und N-Bilanzmessungen mit Broilern sowie jeweils zwei kombinierte Wachstumsversuche und N-Bilanzmessungen mit Ferkeln und Mastschweinen durchgeführt. Zudem sind in Tabellen 10 und 11 sowie 13 und 14

die Teilaspekte der Versuche grau hinterlegt, die in der vorliegenden Dissertation näher betrachtet werden sollen.

4.1.1 Broiler

Tabelle 9 zeigt drei aufeinander folgende kombinierte N-Bilanz- und Wachstumsversuche beim Masthähnchen.

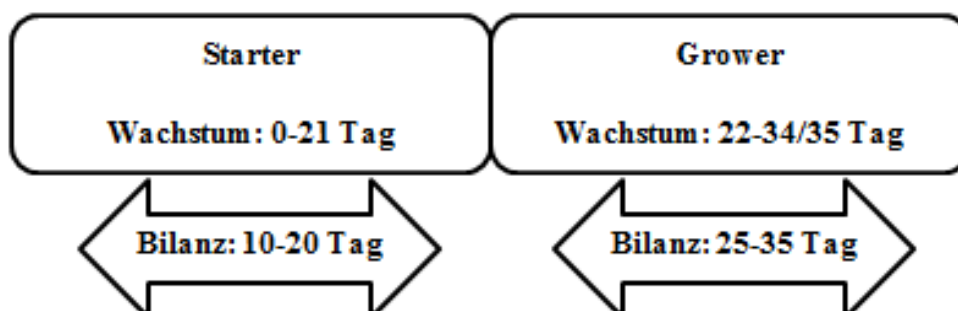
Tabelle 9: Ausgewählte Angaben zu den durchgeführten Versuchen an Masthähnchen

	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3	
	Bilanz	Wachstum	Bilanz	Wachstum	Bilanz	Wachstum
LT Küken Starter	10.-20.	0.-21.	10.-20.	0.-21.	10.-20.	0.-21.
LT Küken Grower	25.-35.	21.-34.	25.-35.	21.-35.	25.-35.	21.-34.
Anzahl Küken Starter	35	288	36	336	36	336
Anzahl Küken Grower	35		36		36	
Anzahl Gruppen Starter	5	5	9	5	9	5
Anzahl Gruppen Grower	5	5	9	5	9	5
n (Starter)	7	9 bzw. 12*	4	9 bzw. 12*	4	9 bzw. 12*
n (Grower)	7	9 bzw. 12*	4	9 bzw. 12*	4	9 bzw. 12*

n= Stichprobengröße; *9 Wiederholungen bei den experimentellen Versuchsmischungen mit HM oder SM und 12 Wiederholungen bei der Kontrollmischung; LT= Lebenstag.

In Bilanzversuch 1 standen jeweils 70 Broiler (35 für die Starterphase und 35 für die Growerphase) zur Verfügung, für die Bilanzversuche 2 und 3 waren es jeweils 72 Broiler (36 für die Starterphase und 36 für die Growerphase). Für den Wachstumsversuch 1 standen 288 Tiere und für Wachstumsversuch 2 und 3 jeweils 336 Tiere zur Verfügung. Ein Versuchsschema liefert Abbildung 6.

Abbildung 6: Kombinierte N-Bilanz- und Wachstumsversuche



4.1.1.1 Wachstumsversuche Broiler

Es wurden drei konsekutive Wachstumsversuche mit unterschiedlicher Substitution des SES durchgeführt. Analog zu den Bilanzversuchen gab es eine Kontrollfuttermischung, die sich nur geringfügig zwischen den Versuchen unterschied. Der Unterschied lag in einer Erhöhung des Lys-Gehaltes in Versuch 2 und 3. Zusätzlich wurde in Versuch 3 Cys hinzugeführt, um ein Verhältnis Met:Cys von 1:1 zu gewährleisten. Dadurch sollte verhindert werden, dass durch das geringe Cys-Angebot ein verstärkter Met-Abbau erfolgte. Im Wachstumsversuch 1 fand ein Ersatz von 50 % des SES durch die alternativen Proteinquellen statt. Im Wachstumsversuch 2 erfolgte ein Ersatz von 75 % in der Starterphase und 50 % in der Growerphase. Im Wachstumsversuch 3 wurde SES komplett durch HM oder SM ersetzt.

Nach Beendigung der Wachstumsversuche erfolgte die Tötung durch CO₂-Inhalation zur Gewebe- und Chymusentnahme, Gewinnung der Ganzkörper sowie der Schlachtkörper für die sensorische Bewertung der Fleischqualität im Rahmen eines parallelen Teilprojektes. Tabelle 10 zeigt die diversen Probenentnahmen. Die histologischen und stereologischen Untersuchungen wurden von zwei externen Kooperationspartnern durchgeführt.

Unter die Bezeichnung der Histologie 1 fällt die Arbeitsgruppe von Frau Dr. Gruber-Dujardin (Deutsches Primatenzentrum, Abteilung Pathologie, Göttingen). Es wurde ein allgemeines Organspektrum (Leber, Milz, Herz, Pankreas, Dickdarm, Bursa Fabricii, Drüsenmagen, Muskelmagen, Nieren, Lunge, Blinddarm und Dünndarm) zur histologischen Untersuchung des Gesundheitsstatus durchgeführt. Stereologische Untersuchungen der funktionellen Absorptionsoberfläche („Surface estimation“) des Dünndarms anhand des „Random Vertical Sectioning“ wurden angeschlossen. Diese Messungen erfolgten auf drei Ebenen (1. Ebene: makroskopisch, 2. Ebene: lichtmikroskopisch (Semidünnschnitt), 3. Ebene: elektronenmikroskopisch (Ultradünnschnitt). Zur stereologischen Dünndarmuntersuchung standen folgende drei Abschnitte des Dünndarms zur Auswahl: Duodenumschleife, proximales Jejunum bis Meckel'sches Divertikulum und distales Jejunum/Ileum vom Meckel'schen Divertikulum bis zur Einmündung der Caeca. Es wurden u.a. folgende Parameter ermittelt: Zottenvergrößerungsfaktor, relative Zottenoberfläche, Verhältnis Zotten-/Kryptenepithelvolumen und Muzinvolumen pro Basalmembranoberfläche.

Tabelle 10: Übersicht Wachstumsversuche Broiler

Diäten	Kontrolle (K)	Hermetia (HM+)	Spirulina (SM+)	Hermetia (HM+AS)	Spirulina (SM+AS)
Versuch 1 Lys: 1,25 / 1,05	100 % SES	50 % SES Austausch Starter/Grower	50 % SES Austausch Starter/Grower	50 % SES Austausch Starter/Grower	50 % SES Austausch Starter/Grower
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	Basissupplementation der Kontrollgruppe		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
GK	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere
Mikrobiologie	Futter und Chymus (n=4)	Futter und Chymus (n=4)	Futter und Chymus (n=4)	-	-
spcV	(n=4)	(n=4)	(n=4)	-	-
Histologie 1	8 Tiere	8 Tiere	8 Tiere	-	-
Histologie 2	12 Tiere	12 Tiere	12 Tiere	-	-
Sensorik	✓	-	-	✓	✓
Diäten	Kontrolle (K)	Hermetia (HM+AS)	Spirulina (SM+AS)	Hermetia (HM-LAS)	Spirulina (SM-LAS)
Versuch 2 Lys: 1,35 / 1,15	100 % SES	75 % / 50 % SES Austausch Starter/Grower	75 % / 50 % SES Austausch Starter/Grower	75 % / 50 % SES Austausch Starter/Grower	75 % / 50 % SES Austausch Starter/Grower
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	erweitertes Niveau gemäß IAAR*		Absenkung: Met 80 % von HM+AS	Absenkung: Met/Lys 80 % von SM+AS
GK	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere
Mikrobiologie	Futter und Chymus (n=4)	-	-	Futter und Chymus (n=4)	Futter und Chymus (n=4)
spcV	(n=4)	-	-	(n=4)	(n=4)
Histologie 1	5 Tiere**	5 Tiere**	5 Tiere**	-	-
Histologie 2	8 Tiere	8 Tiere	8 Tiere	8 Tiere	8 Tiere
Sensorik	✓	✓	✓	-	-
Versuch 3 Lys: 1,35 / 1,15***	100 % SES	100 % SES Austausch Starter/Grower	100 % SES Austausch Starter/Grower	100 % SES Austausch Starter/Grower	100 % SES Austausch Starter/Grower
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	erweitertes Niveau gemäß IAAR*		Absenkung: Met 80 % von HM+AS	Absenkung: Lys 80 % von SM+AS
GK	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere
Mikrobiologie	Futter und Chymus (n=4)	Futter und Chymus (n=4)	Futter und Chymus (n=4)	-	-
spcV	(n=4)	-	-	(n=4)	(n=4)
Histologie 1	5 Tiere	-	-	5 Tiere	5 Tiere
Histologie 2	-	-	-	-	-
Sensorik	✓	✓	✓	-	-

SES = Sojaextraktionsschrot; GK = Ganzkörper; spcV= scheinbare praecaecale Verdaulichkeit von XP und AS; *IAAR= ideales Aminosäurenverhältnis nach Wecke und Liebert (2013); **Tiere für Histologie 1 bereits nach der Starterperiode beprobt; ***+L-Cys zur Einstellung des Verhältnisses Met:Cys =1:1.

Unter die Bezeichnung Histologie 2 fällt die Kooperation mit polnischen Einrichtungen (Department Poultry Science sowie Department of Histology and Embryology, University of Warmia and Mazury in Olsztyn). Beprobte wurden folgende Dünndarmabschnitte: Duodenum, Jejunum und Caecum. Es wurde die Länge der Zotten, die Tiefe der Krypten, das Verhältnis der Zottenlänge zur Kryptentiefe und die Dicke der Muskelschicht (*Tunica muscularis*) gemessen.

Durch die Abteilung Mikrobiologie und Tierhygiene des Departments für Nutztierwissenschaften der Georg-August-Universität Göttingen wurden die mikrobiologischen Untersuchungen von Futter und Chymus durchgeführt. Hierzu erfolgte die Entnahme von Chymusproben aus dem Duodenum bis zum ersten Drittel des Abschnittes zwischen Meckel'schen Divertikel und 2 cm vor der Ileocaecalklappe. Die Proben von jeweils vier bis fünf Tieren wurden für die Analysen gepoolt (n = 4). Die Chymus- und Futterproben wurden mittels unterschiedlicher Anzucht- und Flotationsmethoden auf das quantitative Vorhandensein mehrerer Mikroben und Parasiten untersucht (Gesamtzahl der Bakterien, Enterobakterien, coliforme Bakterien, Salmonellen, E. coli, Enterokokken, Milchsäurebakterien, Campylobacter, aerotolerante Clostridien und Kokzidien).

Das Teilprojekt III des Projektes „Sustainability Transitions“ unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Mörlein (Abteilung Produktqualität tierischer Erzeugnisse, Department für Nutztierwissenschaften, Georg-August-Universität Göttingen) hat die sensorische Bewertung der Schlachtkörper- und Fleischqualität der Broiler vorgenommen und deren Verarbeitungseigenschaften untersucht.

4.1.1.2 N-Bilanzmessungen Broiler

Der detaillierte Versuchsaufbau der drei N-Bilanzversuche ist in Tabelle 11 zu finden. Die N-Bilanzmessungen ermöglichen die Untersuchung kurzer Wachstumsabschnitte und können in Ergänzung zu den Vorgängen im Verdauungstrakt auch Erkenntnisse aus dem Stoffwechsel jenseits der Darmwand liefern. In allen drei Bilanzversuchen gab es eine Kontrollfuttermischung, die als Hauptproteinquelle SES enthielt und sich nur geringfügig zwischen den Versuchen unterschied. Der Unterschied lag in der Erhöhung des Lys-Gehaltes sowie in der Supplementierung von Cys (zur Einstellung des Verhältnisses Met:Cys = 1:1) in den Versuchen 2 und 3. In den experimentellen Futtermischungen wurden jeweils 100 % des SES durch HM oder SM ersetzt.

Tabelle 11: Übersicht N-Bilanzversuche Broiler

Diäten	Kontrolle (K)	Hermetia (HM+)	Spirulina (SM+)	Hermetia (HM+AS)	Spirulina (SM+AS)				
Versuch 1 Lys: 1,25 / 1,05	100 % SES	100 % SES Austausch Starter/Grower	100 % SES Austausch Starter/Grower	100 % SES Austausch Starter/Grower	100 % SES Austausch Starter/Grower				
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	Basissupplementierung der Kontrollgruppe		erweitertes Niveau gemäß IAAR*					
Diäten	Kontrolle (K)	HM +AS	SM +AS	HM -Met ¹	SM -Lys	HM -Arg	SM -Met ¹	HM -Lys	SM -His
Versuch 2 Lys: 1,35 / 1,15**	100 % SES	100 % SES Austausch Starter/Grower							
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	erweitertes Niveau gemäß IAAR*		jeweils eine limitierende AS herabgesetzt					
Diäten	Kontrolle (K)	HM +AS	SM +AS	HM -Met ¹	SM -Met ¹	HM -Arg	SM -His	HM -Thr	SM -Trp
Versuch 3 Lys: 1,35 / 1,15**	100 % SES	100 % SES Austausch Starter/Grower							
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	erweitertes Niveau gemäß IAAR*		jeweils eine limitierende AS herabgesetzt					

SES = Sojaextraktionsschrot; *IAAR= ideales Aminosäurenverhältnis nach Wecke und Liebert (2013); **+L-Cys zur Einstellung des Verhältnisses Met:Cys =1:1; ¹ entspricht: (-Met+Cys).

4.1.2 Ferkel und Mastschweine

Tabelle 12 zeigt zwei aufeinander folgende kombinierte N-Bilanz- und Wachstumsversuche sowohl mit Ferkeln als auch mit Mastschweinen.

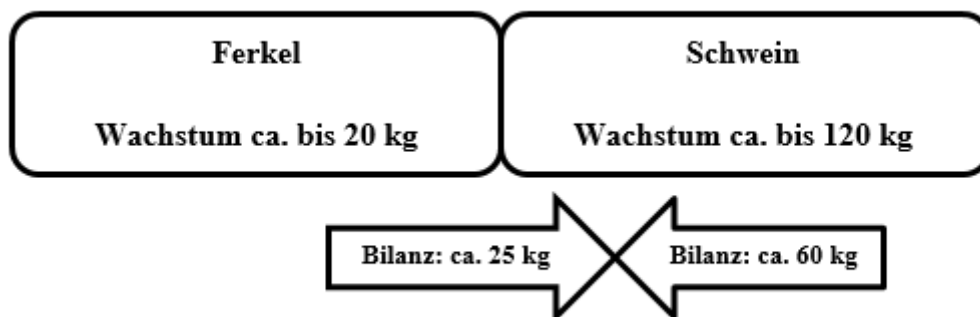
Tabelle 12: Ausgewählte Angaben zu den durchgeführten Versuchen an Ferkeln und Mastschweinen

	Versuch 1				Versuch 2			
	Bilanz		Wachstum		Bilanz		Wachstum	
	Ferkel	Schwein	Ferkel	Schwein	Ferkel	Schwein	Ferkel	Schwein
LT der Tiere	67.-77.	107.- 117.	36.-61.	63.- 119.*	75.-85.	107.- 117.	40.-61.	68.- 117.*
Anzahl der Tiere	16	16	40	24	16	16	40	24
Anzahl Gruppen	4	4	5	3	4	4	5	3
n	4	4	8	8	4	4	8	8

n= Stichprobengröße; *bis zum Erreichen von ca. 75 kg LM, danach weitere Mast bis ca. 120 kg LM für Sensorik; LT= Lebenstag.

Für die vier Bilanzversuche (2 x Ferkel und 2 x Mastschweine) standen jeweils 16 Ferkel oder Mastschweine zur Verfügung. Je 40 Ferkel wurden bei den Wachstumsversuchen bis etwa 20 kg gemästet. Zur weiteren Mast ab 20 kg standen pro Versuch noch 24 Mastschweine zur Verfügung. Ein Versuchsschema liefert die untenstehende Abbildung 7.

Abbildung 7: Kombinierte N-Bilanz- und Wachstumsversuche



4.1.2.1 Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine

Es wurden zwei konsekutive Wachstumsversuche mit unterschiedlichem Substitutionsgrad von SES durchgeführt. Es gab jeweils eine Kontrollgruppe, die sich bei den Ferkeln zwischen den Versuchen geringfügig (AS-Supplementierung) unterschied. Im Wachstumsversuch 1 ersetzten die alternativen Proteinquellen 50 % des SES bis zum Erreichen von 75 kg, danach wurden 100 % des SES eingetauscht. Im Wachstumsversuch 2 fand ein Ersatz von 75 % des SES durch HM oder SM statt, ab 75 kg wurden 100 % des SES durch HM oder SM ausgetauscht. Der 100 %-ige Austausch in Versuchsabschnitt >75 kg LM wurde gewählt, weil der Bedarf an XP und somit der Einsatz an SM in der Endmast gering ist.

Nach Beendigung der Ferkelversuche (bis ca. 20 kg) wurden 16 Tiere unter der Anwendung von Stresnil, Ketamin und T61 vorschriftsgemäß durch einen Tierarzt für weitere Dünndarmuntersuchungen und Chymusentnahmen euthanasiert (siehe Tabelle 13).

Die Stereologie und histologischen Untersuchungen der Ferkel führte die Arbeitsgruppe von Frau Dr. Gruber-Dujardin (Deutsches Primatenzentrum, Abteilung Pathologie, Göttingen) durch. Das Organspektrum zur histologischen Untersuchung des Gesundheitsstatus bestand aus Leber, Milz, Pankreas, Nieren, Magen, mesenteriale Lymphknoten, Blinddarm und Dünndarm. Stereologische Untersuchungen der funktionellen Absorptionsoberfläche („Surface estimation“) des Dünndarms anhand des „Random Vertical Sectioning“ wurden angeschlossen. Diese Messungen erfolgten auf zwei Ebenen (1. Ebene: makroskopisch, 2. Ebene: lichtmikroskopisch (Semidünnschnitt)). Die Auswahl zur stereologischen Dünndarmuntersuchung betraf folgende drei Abschnitte des Dünndarms: Duodenum (vom Magenausgang (*Pylorus*) bis zur *Plica duodenojejunalis*), Jejunum (von *Plica duodenojejunalis* bis Ansatz *Plica ileocaecalis*) und Ileum (von Ansatz *Plica ileocaecalis* bis Blinddarmöffnung (*Ostium ileocaecale*)). Die Ermittlung der Zottenoberfläche in den drei Darmabschnitten bzw. des gesamten Dünndarmes erfolgte über den sogenannten Zottenvergrößerungsfaktor. Als Maß für die sekretorische Aktivität der Becherzellen wurde zusätzlich das Muzinvolumen im Verhältnis zur Basalmembranoberfläche, sowohl in den Krypten als auch den Zotten, abgeschätzt.

Tabelle 13: Übersicht Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine

Diäten	Kontrolle (K)	Hermetia (HM+)	Spirulina (SM+)	Hermetia (HM+AS)	Spirulina (SM+AS)
Versuch 1 Ferkel (11-25 kg)	100 % SES Austausch	50 % SES Austausch	50 % SES Austausch	50 % SES Austausch	50 % SES Austausch
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	Basissupplementation der Kontrollgruppe		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Mikrobiologie	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	-	-
spcV	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	-	-
Histologie 1	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	-	-
Mast (25-50 kg)	100 % SES	-	-	50 % SES Austausch	50 % SES Austausch
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	-		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Mast (50-75 kg)	100 % SES	-	-	50 % SES Austausch	50 % SES Austausch
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	-		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Mast (75-110 kg)	100 % SES	-	-	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	-		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Sensorik	✓	-	-	✓	✓
Versuch 2 Ferkel (11-25 kg)	100 % SES	75 % SES Austausch	75 % SES Austausch	75 % SES Austausch	75 % SES Austausch
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	Basissupplementation der Kontrollgruppe		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Mikrobiologie	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	-	-
spcV	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	-	-
Histologie 1	4 Tiere	4 Tiere	4 Tiere	-	-
Mast (25-50 kg)	100 % SES	-	-	75 % SES Austausch	75 % SES Austausch
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	-		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Mast (50- 75 kg)	100 % SES	-	-	75 % SES Austausch	75 % SES Austausch
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	-		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Mast (75-110 kg)	100 % SES	-	-	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch
AS-Supplementierung	gemäß IAAR*	-		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Sensorik	✓	-	-	✓	✓

SES = Sojaextraktionsschrot; spcV= scheinbare praecaecale Verdaulichkeit von XP und AS; *IAAR= ideales Aminosäurenverhältnis nach GfE (2008).

Für die mikrobiologischen Untersuchungen von Futter und Chymus (Abteilung Mikrobiologie und Tierhygiene des Departments für Nutztierwissenschaften der Georg-August-Universität Göttingen) erfolgte die Entnahme von Chymusproben von jeweils vier Tieren pro Gruppe vom oberen Teil des Caecums. Die Chymus- und Futterproben wurden mittels unterschiedlicher Anzucht- und Flotationsmethoden auf das quantitative Vorhandensein mehrerer Mikroben und Parasiten untersucht (Gesamtzahl der Bakterien, Enterobakterien, coliforme Bakterien, Salmonellen, E. coli, Enterokokken, Milchsäurebakterien, Campylobacter, aerotolerante Clostridien und Kokzidien).

Nach Ende der Mastzeit (ca. 120 kg) wurden die Schweine sachgerecht geschlachtet (Durchführung: Fachpersonal des Departments für Nutztierwissenschaften, Georg-August-Universität Göttingen) und zur Gewinnung von Probenmaterial für sensorische Untersuchungen der Fleischqualität und seiner Verarbeitungseigenschaften bereitgestellt (Teilprojekt III, Department für Nutztierwissenschaften, Abteilung Produktqualität tierischer Erzeugnisse, Georg-August-Universität Göttingen).

4.1.2.2 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine

Der detaillierte Versuchsaufbau der N-Bilanzversuche der Ferkel und Mastschweine ist in Tabelle 14 dargestellt. In allen Versuchsgruppen fanden als Hauptproteinquellen entweder HM oder SM Verwendung. Die N-Bilanzmessungen ermöglichen die Untersuchung von kurzen Wachstumsabschnitten sowie die Berücksichtigung der intermediären Verwertung des N über den ausgeschiedenen Harn.

Tabelle 14: Übersicht N-Bilanzversuche Ferkel und Mastschweine

Diäten	Hermetia (HM+)	Spirulina (SM+)	Hermetia (HM+AS)	Spirulina (SM+AS)
Versuch 1				
Ferkel (25 kg)	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch
AS-Supplementierung	Lys auf 80 % der Empfehlung		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Mastschwein (60 kg)	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch
AS-Supplementierung	Lys auf 80 % der Empfehlung		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Versuch 2				
Ferkel (25 kg)	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch
AS-Supplementierung	Lys auf 80% der Empfehlung		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	
Mastschwein (60 kg)	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch	100 % SES Austausch
AS-Supplementierung	Lys auf 80 % der Empfehlung		erweitertes Niveau gemäß IAAR*	

SES = Sojaextraktionsschrot; *IAAR= ideales Aminosäurenverhältnis nach GfE (2008).

4.2 Charakterisierung der Proteinquellen

Gegenstand der vorliegenden Dissertation war der teilweise Austausch des Proteinträgers SES durch die alternative Proteinquelle *Spirulina platensis*. Als Hauptproteinquellen kamen ein SES und zwei verschiedene Chargen an *Spirulina platensis* zum Einsatz. Die erste Charge Spirulinamehl (SM1) war ein sonnengetrocknetes, handelsübliches Spirulina-Pulver, welches aus Myanmar stammte und als frei von GMO, Bestrahlung, Pestiziden, Farbstoffen, Konservierungsstoffen und Zusatzstoffen deklariert wurde. Wie die Roh Nährstoffzusammensetzung (Tabelle 15) zeigt, fand keine Fettextraktion aus dem Algenmehl statt. Den Gehalt an Microcystinen analysierte ein externes Labor (TeLA GmbH, 27607 Geestland, Deutschland). Dieser blieb unter der Nachweisgrenze. Die Charge SM1 wurde für die Broilerversuche 1 und 2 (Bilanz und Wachstum) sowie die gesamten Ferkel- und Mastschweinversuche verwendet. Das SM aus der zweiten Charge (SM2) kam nur im

Broilerversuch 3 (Bilanz und Wachstum) zum Einsatz. Dabei handelte es sich um ein sprühgetrocknetes Produkt aus China (getrocknet für 4 - 6 Sekunden bei einer Einlasstemperatur von 180°C und einer Auslasstemperatur von 75°C). Die Deklaration lautete: GMO-frei, nicht bestrahlt und frei von Pestiziden. Die Spirulina-Alge wurde in Wasserkulturen in mit Kunststoff ausgekleideten Teichen ohne Verschmutzung kultiviert und nach der Ernte gespült, filtriert und sprühgetrocknet. Die Nährstoffgehalte der drei Proteinquellen sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 15: Analysenergebnisse der Proteinquellen

	Sojaextraktionsschrot (SES)	Spirulinamehl (SM 1) Myanmar	Spirulinamehl (SM 2) China
Inhaltsstoff			
TS (%)	89,5	96,6	92,0
XP (% in TS)	48,1	58,8	68,9
XA (% in TS)	6,9	6,1	9,1
XL (% in TS)	2,1	4,3	6,3
XF (% in TS)	9,3	0,5	0,5
AS-Gehalt	gAS/16gN	gAS/16gN	gAS/16gN
Lys	6,07	3,91	4,59
Met	1,28	1,81	2,05
Cys	1,46	0,77	0,94
Thr	3,78	4,39	4,49
Arg	7,19	6,79	7,57
Val	4,37	5,87	5,39
Leu	7,32	8,04	7,99
Ile	4,34	5,07	5,04
His	2,53	1,28	1,51
Phe	4,88	3,89	4,02
Tyr	3,71	3,80	3,94
Ala	4,22	7,22	6,78
Gly	4,29	4,49	4,63
Pro	5,09	3,34	3,72
Glu	17,30	15,53	13,98
Ser	4,81	4,49	4,57
Asp	11,27	9,52	10,17

4.3 Tiere, Tierhaltung und Versuchsdurchführung

Die durchgeführten Experimente waren vom Niedersächsischen Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES) genehmigt bzw. wurden diesem angezeigt. Alle Experimente fanden in den Versuchseinrichtungen der Abteilung Tierernährungsphysiologie der Georg-August-Universität Göttingen statt.

4.3.1 Broiler

In den Versuchen kamen ausschließlich männliche Tiere der Genetik Ross 308 zum Einsatz. Am Schlupftag wurden die Tiere von einer kommerziellen Brüterei (Wimex Agrarprodukte,

06842 Dessau-Roßlau) bezogen und zunächst in Bodenhaltung auf Holzspänen bei einer Temperatur von 32°C gehalten.

4.3.1.1 Wachstumsversuche Broiler

Für die Wachstumsversuche standen 288 Broiler in Versuch 1 und jeweils 336 Broiler in Versuch 2 und 3 zur Verfügung. Im Alter von einem Tag (erster Versuchstag) erfolgte die Einteilung der Tiere in homogene Versuchsgruppen, wobei jedes Tier einzeln gewogen und entsprechend seiner LM den verschiedenen Boxen (48 Stück) zugeteilt wurde. Jeweils 24 Boxen befanden sich in zwei unterschiedlichen Räumen und unterschieden sich leicht in den Abmessungen (70 x 150 cm und 108 x 120 cm). In Versuch 1 waren 6 Tiere pro Box und in Versuch 2 und 3 jeweils 7 Tiere pro Box untergebracht. Dies entspricht einer Fläche von 0,17 bis 0,22 m² pro Tier in Versuch 1 bzw. 0,15 bis 0,19 m² in Versuch 2 und 3. Jede Box war mit einer automatischen Rundtränke und einem Futtertrog bestückt. In beiden Versuchsräumen war ein automatisches Zu- und Abluftsystem installiert. Die Temperatur betrug zu Beginn des Versuches 32°C und wurde wöchentlich um 2 - 3°C herunterreguliert, um den Temperaturbedürfnissen der wachsenden Tiere gerecht zu werden. Der Hell:Dunkel-Rhythmus während des gesamten Versuches betrug 23:1 h. Bei Bedarf wurde während des gesamten Versuchszeitraumes feuchte Einstreu aus den Boxen entfernt und durch frische ersetzt.

4.3.1.2 N-Bilanzmessungen Broiler

Für die N-Bilanzversuche standen für Versuch 1 insgesamt 70 Tiere, davon 35 für die Starterperiode und 35 für die Growerperiode, zur Verfügung. In den Versuchen 2 und 3 betrug die Tieranzahl jeweils insgesamt 72 Tiere, davon 36 für die Starterperiode und 36 für die Growerperiode. Die Küken wurden am 2. Lebenstag (LT) in die Bodenhaltungsboxen eingestallt und verblieben dort zusammen mit den Reservetieren, bis sie am 4. LT in die Bilanzkäfige kamen. Dort verbrachten sie eine fünftägige Adaptationsperiode. Um eine homogene Verteilung der LM in allen Versuchsgruppen sicherzustellen, erfolgte zuvor die Wägung der Tiere. Vom 4. bis zum 5. LT waren 2 Tiere pro Käfig eingestallt, um eine schnellere Gewöhnung an die neue Haltungsumwelt zu gewährleisten. Am 5. LT wurde jeder Stoffwechselkäfig (25 x 30 cm) mit jeweils einem Tier belegt, und die Tiere konnten über fünf weitere Tage beobachtet werden, bevor am 10. LT die Sammelperiode begann (10. - 20. LT, 2 x 5 Tage). Eine zweifache Sammelperiode fand statt, um die Anzahl der Wiederholungen je Versuchsmischung zu erhöhen, ohne die Versuchstierzahlen steigern zu müssen. Die Käfige waren mit Gitterböden, Selbsttränken und Futtertrögen ausgestattet. Im

Verlauf der Experimente wurde die Haltungstemperatur entsprechend den Vorgaben des Zuchtverbandes (Aviagen, 2014a) angepasst. Licht stand 23 h zur Verfügung. Der zeitliche Ablauf der Experimente während der Growerperiode verlief analog zur Starterperiode, so dass am 20. LT Tiere für eine fünftägige Adaptationsperiode in die Stoffwechselkäfige (80 x 80 cm) verbracht wurden. Für die Untersuchungen in der Growerperiode wurden grundsätzlich keine Tiere aus dem Versuch in der Starterperiode verwendet. Die Sammelperiode war auch hier in zwei aufeinanderfolgende Abschnitte unterteilt: 25. - 30. LT bzw. 30. - 35. LT. Die Exkreme wurden während der 2 x 5-tägigen Sammelperioden in jedem Altersabschnitt alle 12 h parallel zu den Fütterungszeiten gesammelt. Die Lagerung der Exkreme erfolgte bei -20°C bis zur weiteren Analyse.

4.3.2 Ferkel und Mastschweine

Die Auswahl der Versuchstiere betraf ausschließlich männliche, kastrierte Ferkel bzw. Mastschweine, um Geschlechtsdimorphismus bedingte Effekte zu vermeiden. Bei den Kastraten handelte es sich um Kreuzungsprodukte einer Dreilinienskreuzung aus der Sauenlinie Large White x Landrasse und dem Endstufeneber der Vaterlinie PIC 408. Die Tiere wurden zwischen dem 2. und 3. LT mit Ursoferran, 400 mg (Eisen) behandelt. Die Impfung gegen Mycoplasmen und die Kastration der Ferkel erfolgte zwischen dem 3. und 5. LT. Beim Absetzen (21. LT) erfolgte eine Circoflex-Impfung (Boehringer) und die zweite Impfung gegen Mycoplasmen. Die Tiere wurden von einem kommerziellen Anbieter (Ferkelzuchtbetrieb Weißkittel, 37181 Hardegsen-Trögen) bereitgestellt.

4.3.2.1 Wachstumsversuche Ferkel

Die für den Versuch ausgewählten Absetzferkel (40 Stück pro Versuchsdurchgang) hatten bei ihrer Ankunft in der Versuchseinrichtung ein Durchschnittsalter von 21 Tagen. Die Tiere wurden in Einzelflatdecks der Größe von 0,4 m² gehalten. Ausgestattet waren die Flatdecks mit einer Nippeltränke, einem ausschwenkbaren Futtertrog und einer integrierten Heizplatte. Die Absetzferkel wurden einstreulos in den Flatdecks gehalten, der Spaltenanteil des Bodens betrug 78 %. Die Anpassung der Temperatur erfolgte an die sich mit fortlaufendem Alter verändernden Bedürfnisse der Ferkel. Diese lag zwischen 30°C und 25°C. Es fand eine tägliche Beurteilung der Ferkel und der Kotkonsistenz statt.

4.3.2.2 Wachstumsversuche Mastschweine

Die jeweils 40 Ferkel verließen mit ca. 20 kg die Flatdacks, davon wurden jeweils 24 Tiere erneut gewogen, in homogene LM-Gruppen aufgeteilt und in gereinigten und desinfizierten Einzelboxen (1,2 m x 1,4 m) auf wärmeisoliertem Beton aufgestellt. Die Raumtemperatur

wurde an die sich mit fortlaufendem Alter veränderten Bedürfnisse angepasst und lag zwischen 18°C und 24°C. Die Buchten besaßen einen Futtertrog und eine Nippeltränke. Wasser stand frei zu Verfügung. Bis zum Erreichen von 70 kg LM erfolgte die Haltung der Tiere auf Stroh mit wöchentlicher Entmistung, ab 70 kg LM einstreulos mit täglicher Druckwasserstrahlreinigung.

4.3.2.3 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine

Jeweils 16 Ferkel pro Versuchsdurchgang wurden während des Versuchszeitraumes von zehn Tagen (2 x 5 Tage konsekutive Sammelperioden) sowie einer Vorperiode von fünf Tagen in Stoffwechsellkäfigen gehalten. Vor Versuchsbeginn erfolgte die Haltung der Tiere in Kleingruppen auf Flatdecks und nach Versuchsende in mit Stroh eingestreuten Buchten. Die Käfige waren so konzipiert, dass eine getrennte und quantitative Sammlung von Kot und Harn möglich war. Es bestand die Möglichkeit, die Stoffwechsellkäfige in Länge und Breite an die Größe der Tiere individuell anzupassen. Die Käfige waren mit schwenkbaren Nippeltränken und abnehmbaren Trögen ausgestattet. Um den Einfluss unterschiedlicher FI zu vermeiden, wurde die tägliche Futterzufuhr innerhalb der Versuchsperioden konstant gehalten. Kot und Harn wurden getrennt voneinander und tierindividuell zweimal täglich (6.00 Uhr und 18.00 Uhr) gesammelt. Durch optimale Anpassung der Standlänge konnten Kotverluste ausgeschlossen werden. Die Lagerung des Kotes fand bei -20°C statt. Die Homogenisierung erfolgte am Ende jeder Sammelperiode. Für die laboranalytischen Untersuchungen wurde ein Aliquot entnommen und bei -20°C aufbewahrt. Der Harn wurde in Kanistern mit einer Vorlage von 30 %-iger Schwefelsäure aufgefangen (Ferkel 50 ml und Mastschweine 60 ml), um N-Verluste durch enzymatische Freisetzung von Ammoniak aus Harnstoff zu vermeiden. Täglich wurden 10 % der Gesamtmenge (Aliquot) in Flaschen abgefüllt und bei -20°C aufbewahrt. Die Anpassung der Temperatur erfolgte an die sich mit fortlaufendem Alter verändernden Bedürfnisse der Ferkel und Schweine. Diese lag zwischen 21°C und 26°C. Es fand eine tägliche Beurteilung der Kotkonsistenz statt.

4.4 Fütterung und Versuchsdiäten

Die Entwicklung von eigens für die Versuche vorgesehenen Futtermischungen setzt Kenntnisse über den Nährstoffbedarf der Tiere und die verfügbaren Nährstoffe in den Futtermitteln voraus. Um den zu erwartenden Nährstoffbedarf der Tiere zuverlässig abzuschätzen, wurden Versorgungsempfehlungen herangezogen und modifiziert. Die Laboranalysen der Nährstoffe in den Futtermitteln dienten zusammen mit den Versorgungsempfehlungen als Grundlage für die Rationsberechnung. Ein besonderes

Augenmerk galt hierbei den Roh Nährstoffgehalten sowie der AS-Zusammensetzung. Die Kalkulation der Futtermischungen erfolgte mit Hilfe eines Computer-Programms (HYBRIMIN® WinFumi Vers. 8). Die Abteilung Tierernährungsphysiologie der Georg-August-Universität Göttingen stellte alle Futtermischungen eigens her. Die Auswahl der in die Untersuchung eingebundenen Futtermittel erfolgte unter dem Aspekt ihrer Bedeutung in der Broiler- und Schweinefütterung. Die praxisüblichen Futtermischungen bestehen vorwiegend aus Getreide, Mais und SES. Zusätzlich beinhalten sie Vitaminvormischungen, Mineralstoffe und Sojaöl. Die verwendeten Wirkstoff-Vormischungen wurden auf Grundlage von wissenschaftlichen Vorgaben seitens der Abteilung Tierernährungsphysiologie von der Deutschen Vilomix Tierernährung GmbH hergestellt.

4.4.1 Fütterung

4.4.1.1 Fütterung Broiler

Zur Herstellung des Versuchsfutters wurde zunächst eine Vormischung aus den kleineren Komponenten, die separat gewogen wurden, hergestellt. Die Hauptkomponenten wurden ebenfalls separat abgewogen und anschließend mit der Vormischung im Lödige-Mischer Typ EM130D1MZ vermischt. Anschließend erfolgten die Pelletierung des fertig gemischten Futters mit einer Pelletpresse sowie die Trocknung unter Kaltluftzufuhr über 24 h, um eine Reduzierung des Feuchtegehaltes zu erzielen. Die Größe der Pellets betrug 2 mm (Starterphase) und 4 mm (Growerphase).

4.4.1.1.1 Wachstumsversuche Broiler

Während der gesamten Versuchsdauer hatten die Tiere *ad libitum* Zugang zu den Futtertrögen und zu Wasser. Das Futter lag den Tieren pelletiert vor. Die Tröge wurden so gefüllt, dass Streuverluste minimiert werden konnten. Mehrmals täglich erfolgte die Kontrolle der Tröge, um sie bei Bedarf mit Futter aufzufüllen. Einmal wöchentlich wurde das Restfutter zurückgewogen und neues Futter eingewogen, um den Futterverzehr in der jeweiligen Versuchswoche erfassen zu können. Ebenso fand die Wägung der Tiere einmal wöchentlich statt.

4.4.1.1.2 N-Bilanzmessungen Broiler

Während den ersten vier LT erhielten die Broilerküken ein Standardfutter, welches schrittweise (1; 2/3; 1/3; 0) durch das Versuchsfutter ersetzt wurde. Um Streuverluste zu minimieren, wurden die Broiler in den Bilanzversuchen leicht restriktiv gefüttert. Zu Beginn jeder Adaptationsperiode erhielten die Tiere jedoch zunächst *ad libitum* Zugang zum Futter, um die Höhe der FI, die das Tier bei freiem Zugang wählen würde, ermitteln zu können. Ab

dem dritten Tag der Adaptationsperiode blieb die ermittelte Futtermenge konstant. Da in schnell wachsenden Tieren eine altersbedingte Anpassung an die Futtermenge erfolgen muss, fand eine schrittweise Anhebung der Futtermenge während des Versuches statt, wobei die Erhöhung der Futtergabe immer an den schnell wachsenden Tieren gemessen wurde. Während der Adaptationsperioden und der Sammelperioden wurde das Versuchsfutter zweimal täglich verabreicht (08:00 h und 20:00 h). Zur Bestimmung der FI wurde nicht aufgenommenes Futter täglich zurückgewogen und auf das Sammelblech gefallene Pellets quantifiziert und berücksichtigt. Wasser stand den Tieren *ad libitum* zur Verfügung. Die Wägung der Tiere erfolgte sowohl zu Beginn der Vorperiode, als auch der jeweiligen Hauptperiode morgens nüchtern vor Bilanzbeginn und nach Beendigung jedes Versuchsdurchganges.

4.4.1.2 Fütterung Ferkel und Mastschweine

Bei der Herstellung des Versuchsfutters wurde eine Vormischung aus den Kleinkomponenten hergestellt. Darauffolgend wurden die Hauptkomponenten separat abgewogen und anschließend mit der Vormischung vermischt. Die Ferkel und Mastschweine, die den Wachstumsversuch durchliefen, bekamen das Futter in Schrotform vorgelegt. In den Bilanzversuchen kam pelletiertes Futter zum Einsatz.

4.4.1.2.1 Wachstumsversuche Ferkel

Dem Versuchsbeginn ging eine 14-tägige Eingewöhnungsphase in den Versuchsanlagen voraus. Durch die Demontage der Zwischenwände über neun Tage bot ein Käfig für zwei Tiere Platz. Eine Woche vor Versuchsbeginn wurden die Tiere separiert und der Prestarter schrittweise mit dem jeweiligen Versuchsfutter verschnitten. Die Fütterung der Ferkel erfolgte dreimal täglich zu den gleichen Uhrzeiten (7:00 Uhr, 12:00 Uhr, 17:00 Uhr). So konnte gewährleistet werden, dass die Tiere nahezu ständigen Zugang zu Futter hatten. Die Futtermenge pro Mahlzeit erfolgte nach einem vorgefertigten Plan, der nach Bedarf angepasst wurde. Das Futter wurde den Tieren in Schrotform vorgelegt. Über Beißnippel-Tränken hatten die Ferkel ständigen Zugang zu frischem Wasser. Bei jeder Fütterung erfolgte zunächst die Kontrolle der Futtertröge. Futterreste im Trog und am Boden wurden in Eimern gesammelt, Kot aus den Trögen entfernt sowie feuchtes Futter in Aluminiumschalen gesammelt und im Trockenschrank getrocknet. Zur Bestimmung der FI wurde nicht aufgenommenes Futter einmal wöchentlich zurückgewogen. Zudem erfolgte zu allen Fütterungszeiten eine Funktionskontrolle der Tränken. Die Tiere wurden einmal wöchentlich gewogen.

4.4.1.2.2 Wachstumsversuche Mastschweine

Vor Versuchsbeginn wurde das Standardfutter schrittweise mit dem jeweiligen Versuchsfutter vermischt, um die Tiere langsam an das Versuchsfutter zu gewöhnen. Das Versuchsfutter lag den Tieren schrotförmig vor und wurde trocken verzehrt. Wasser stand den Tieren *ad libitum* zur Verfügung. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich (7:00 Uhr und 17:00 Uhr). Die Futtermenge war so bemessen, dass möglichst alle Tiere gesättigt waren. Bei jeder Fütterung erfolgte zunächst die Kontrolle der Futtertröge. Vereinzelt auftretende Futterreste im Trog und am Boden wurden in Eimern gesammelt, Kot aus den Trögen entfernt sowie feuchtes Futter in Aluminiumschalen gesammelt und im Trockenschrank getrocknet, um den Futtermenge korrekt zu erfassen. Zur Bestimmung der FI wurde nicht aufgenommenes Futter einmal wöchentlich zurückgewogen. Zudem erfolgte zu allen Fütterungszeiten eine Funktionskontrolle der Tränken. Die Wiegung der Tiere fand ebenso einmal wöchentlich statt.

4.4.1.2.3 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine

Vor jeder Vorbereitungsperiode erhielten die Ferkel und Mastschweine ein Standardfutter, das ca. sechs Tage vor der Vorperiode schrittweise (1; 2/3; 1/3; 0) durch das Versuchsfutter ersetzt wurde. Das Futter lag generell pelletiert vor. Die Fütterung der Ferkel erfolgte dreimal täglich zu den gleichen Uhrzeiten (6:00 Uhr, 12:00 Uhr, 18:00 Uhr), bei den Mastschweinen zweimal täglich zu den gleichen Uhrzeiten (6:00 Uhr und 18:00 Uhr). Um den Einfluss unterschiedlicher FI auf die N-Bilanz zu vermeiden, wurde innerhalb der Versuchsperioden die tägliche Futterzufuhr konstant gehalten. Zusätzlich stand den Tieren vor und nach jeder Fütterung sowie in geregelten Abständen Trinkwasser zur Verfügung. Zur Bestimmung der FI wurde nicht aufgenommenes Futter täglich zurückgewogen. Die Wiegung aller Tiere fand sowohl zu Beginn der Vorperiode, als auch der jeweiligen Hauptperiode morgens nüchtern vor Bilanzbeginn und nach Beendigung jedes Versuchsdurchganges statt.

4.4.2 Versuchsdiäten

4.4.2.1 Broiler

4.4.2.1.1 Versorgungsempfehlungen

Die Versuchstiere erhielten als Futtergrundlage folgende Komponenten: Weizen, Mais, SES, Sojaöl, Broiler Vilomix (Vitaminmischung), Dicalciumphosphat, Calciumcarbonat, Natriumchlorid und TiO₂ (Markersubstanz) oder Weizenstärke. Die Festlegung der Gehalte an XP, Energie, Ca, Na und P basierte auf mehreren Literaturempfehlungen (Pastor, 2014). Tabelle 16 gibt die verwendeten Richtwerte wieder.

Tabelle 16: Zielgrößen für die Gehalte an XP, Energie, Na, Ca und P in den Diäten (nach Pastor, 2014)

	Energie (MJ ME/kg)	Rohprotein (%)	Kalzium (%)	Gesamt Phosphor (%)	Natrium (%)
Starterperiode	12,7	22	1,0	0,6	0,2
Growerperiode	13,3	20	0,85	0,55	0,18

In den Startermischungen wurde ein Lys-Gehalt von 1,25 % (Versuch 1) bzw. 1,35 % (Versuch 2 und 3), in den Growermischungen ein Lys-Gehalt von 1,05 % (Versuch 1) bzw. 1,15 % (Versuch 2 und 3) eingestellt (siehe Tabellen 10 und 11). Die Erhöhung des Lys-Gehaltes in Experiment 2 und 3 erfolgte aufgrund von aktuelleren Empfehlungen (Wecke et al., 2016). Weiterhin basierten die Futtermischungen auf dem aus verschiedenen Literaturdaten erhobenen Idealen-Aminosäuren-Verhältnis (IAAR), das in Tabelle 17 dargestellt ist (Wecke und Liebert, 2013). Das Ideal-Protein bringt das relative Verhältnis der essentiellen Aminosäuren im Vergleich zu Lys als Referenzaminoäure (100) entsprechend dem AS-Bedarfsmuster im tierischen Organismus zum Ausdruck. Als Referenzaminoäure wird vorzugsweise Lys verwendet, da Lys überwiegend für den Körperproteinansatz verwendet wird (Baker, 1997; Baker et al., 2002).

Tabelle 17: Annahmen für das IAAR für Masthähnchen in der Starter- und Growerphase (Wecke und Liebert, 2013)

Aminosäure	Starterperiode	Growerperiode
Lys	100	100
Met	38	38
Met+Cys	74	74
Thr	60	62
Trp	19	17
Arg	105	105
His	34	34
Ile	55	65
Val	63	79
Leu	105	105
Phe	66	66
Phe+Tyr	120	120

4.4.2.1.2 Versuchsdiäten Wachstum Broiler

In diesem Kapitel werden die Versuchsdiäten der Kontrollgruppen und die experimentellen Futtermischungen mit *Spirulina platensis* der Wachstumsversuche 1, 2 und 3 (komplette

Experimente siehe auch Publikation Nr. II) beschrieben. Tabellenanhang 1 zeigt die Versuchsdiäten des Wachstumsversuches 1.

Das Verhältnis Weizen zu Mais wurde in allen Versuchskomplexen der Broilerexperimente konstant bei 2:1 gehalten. Dadurch sollte eine Verschiebung der AS-Verhältnisse durch diese Getreidekomponenten verhindert werden. Bezüglich der Energiedichte wiesen die SM-Mischungen höhere AME_N-Gehalte auf. Dies hing nicht mit den analysierten XL-Gehalten zusammen, sondern mit dem größeren Getreideanteil in den Futtermischungen, da der XP-Gehalt in *Spirulina platensis* höher war als in SES. Dieser Effekt wurde durch die Reduktion von Sojaöl nicht kompensiert.

Die Kontrollmischung basierte auf Weizen, Mais und SES, ergänzt durch Lys und Met, um dem idealen AS-Verhältnis (IAAR) zu entsprechen (Wecke und Liebert, 2013). In den experimentellen Futtermischungen von Versuch 1 wurden 50 % des SES durch SM ersetzt. Die Mischung SM+ wurde mit Lys und Met gemäß der Kontrollgruppe supplementiert. Eine erweiterte AS-Supplementierung erfolgte in der Mischung SM+AS, um das IAAR zu treffen. Hierzu war in der Starterperiode zusätzlich zu einer Erhöhung von Lys und Met eine Ergänzung mit Arg und in der Growerperiode mit Arg und Val notwendig.

Die analysierten Nährstoffgehalte in Tabellenanhang 1 zeigen, dass in Versuch 1 der Gehalt an Rohprotein (XP) in der Trockensubstanz (TS) bei den Mischungen mit SM tendenziell niedriger war. Das Gleiche galt für den Rohfasergehalt (XF) mit 28,5 bis 33,4 g/kg TS zu 40,4 bis 45,2 g/kg TS und den Gehalt an Rohasche (XA) mit 53,5 bis 59,2 g/kg TS zu 61,6 bis 65,6 g/kg TS.

Trotz AS-Supplementierung auf Basis gemäß der Kontrollmischung enthielt die Mischung SM+ niedrigere Gehalte an Lys, den SAS und Arg im Vergleich zur Kontrollmischung. Darüber hinaus waren die Mischungen SM+ und SM+AS in Bezug auf den His-Gehalt niedriger, was darauf hindeutet, dass dieses Angebot an His ein limitierender Faktor für diese Futtermischungen sein könnte.

Im Versuch 2 wurden in der Starterperiode 75 % des SES und in der Growerperiode 50 % des SES der experimentellen Futtermischungen durch SM ersetzt. Die Kontrollgruppe erhielt hierbei in der Starterperiode Lys, Met, Thr und in der Growerperiode zusätzlich Val als Supplementation gemäß dem IAAR (Wecke und Liebert, 2013). Die SM+AS-Mischung wurde mit Lys, Met, Arg und His (Starterperiode) sowie Lys und Met (Growerperiode) ergänzt, um dem IAAR zu entsprechen. In einem weiteren Schritt wurde die Konzentration

der kalkulatorisch erstlimitierenden AS der experimentellen Diät auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt (SM-LAS = Starter: Lys, Grower: Met), um die Bedeutung der Supplementation zu demonstrieren und ggf. die Wirksamkeit dieser Aminosäuren weiter zu untersuchen. In Tabellenanhang 2 sind die experimentellen Futtermischungen des Wachstumsversuches 2 verdeutlicht.

Die analysierten Nährstoffzusammensetzungen (Tabelleanhang 2) zeigen, dass in Versuch 2 die XP-Gehalte in der Startermischung ähnlich waren, wobei die SM-Mischungen tendenziell höhere XP-Gehalte aufwiesen als die Kontrollmischung. Bei den Growermischungen erreichte die Mischung SM+AS den höchsten XP-Gehalt. Die XF-Gehalte lagen zwischen 31,4 g/kg TS und 49,6 g/kg TS (Startermischungen) sowie 38,1 g/kg TS und 57,7 g/kg TS (Growermischungen). Die XA-Gehalte waren in den Startermischungen (55,1 g/kg TS bis 63,0 g/kg TS) im Vergleich zu den Growermischungen (54,1 g/kg TS bis 61,1 g/kg TS) sehr ähnlich.

In Versuch 3 stand die Wirkung einer vollständigen Substitution des SES durch SM in den Starter- und Growerfuttermischungen im Vordergrund. Die Kontrollmischung wurde in der Starterperiode mit Lys, Met und Thr ergänzt. In der Growerperiode erfolgte zusätzlich eine Ergänzung von Val. Die SM+AS-Mischung wurde mit Lys, Met, Arg und His (Starterperiode) sowie Lys und Met (Growerperiode) ergänzt, um dem IAAR zu entsprechen. Zusätzlich erfolgte im Versuch 3 die Anreicherung der AS Cys, um ein Verhältnis von Met zu Cys von 1:1 zu gewährleisten. Gemäß dem Vorgehen in Versuch 2 wurde die Konzentration der kalkulatorisch erstlimitierenden AS der Versuchsdiäten auf 80 % ihrer Empfehlung (SM-LAS = Starter: Lys, Grower: Lys) reduziert, um die Grenzstellung zu verifizieren und weitere Auswertungen zur AS-Wirksamkeit zu ermöglichen.

In Tabellenanhang 3 zeigen die analysierten Nährstoffgehalte, dass in Versuch 3 die XP-Gehalte sich in der Starter- und Growermischung kaum unterschieden. Die XF-Gehalte lagen zwischen 18,2 g/kg TS bis 52,3 g/kg TS (Starterfutter) und 15,4 g/kg TS bis 39,1 g/kg TS (Growerfutter), am niedrigsten waren sie in den SM-Mischungen. Die XA-Gehalte lagen zwischen 58,4 g/kg TS bis 63,4 g/kg TS (Startermischungen) und 55,5 bis 61,9 g/kg TS (Growermischungen). Die analysierten XL-Gehalte waren bei den SM-Mischungen bei einem Austauschniveau des SES durch 100 % SM am niedrigsten.

4.4.2.1.3 Versuchsdiäten N-Bilanz Broiler

Dieses Kapitel befasst sich mit den Versuchsmischungen der Bilanzversuche 1 und 2 mit Broilern. Tabellenanhänge 4 und 5 zeigen die Inhaltsstoffe der Futtermischungen der Kontroll- und der SM-Mischungen des Bilanzversuches 1 (siehe auch Publikation Nr. I) bzw. des Bilanzversuches 2.

Analog zu den Wachstumsversuchen wurde im Verhältnis 2:1 Weizen und Mais gemischt. Bei den N-Bilanzmessungen waren ebenso höhere Energiegehalte aufgrund des höheren Getreideanteils, der aus dem höheren XP-Gehalt des SM in den Mischungen resultierte, zu finden.

Die Kontrollmischungen (Starter/Grower) basierten auf Weizen (33/38 %), Mais (16/19 %) und SES (39/32 %) als Hauptkomponenten (Tabellenanhang 4). In den experimentellen Futtermischungen wurde SES vollständig durch SM in der Starter- als auch Growerperiode ersetzt. Die Futtermischungen enthielten 21/17 % SM, um den empfohlenen XP-Gehalt zu erreichen. Die experimentellen Mischungen wurden zusätzlich mit AS ergänzt. Die Mischung SM+ wurde analog zur Kontrollmischung (Lys, Met) ergänzt. Die Ergänzung der Mischung SM+AS basierte auf einem erweiterten Supplementationsniveau (z.B. Lys, Met, Arg, Val, His) gemäß der aktuellen Empfehlungen zum IAAR (Wecke und Liebert, 2013).

Die analysierten Nährstoffgehalte in Tabellenanhang 4 zeigen, dass in Versuch 1 der Gehalt an XP in der TS bei SM-Mischungen niedriger war. Der XF-Gehalt lag zwischen 22,2 und 45,2 g/kg TS (Startermischungen) bzw. 19,4 und 45,7 g/kg TS (Growermischungen) und zeigte doppelt so hohe Werte bei den Kontrollmischungen gegenüber den SM-Mischungen. Der Gehalt an XA war sowohl in den Startermischungen (51,9 bis 65,6 g/kg TS) als auch den Growermischungen (45,2 bis 60,6 g/kg TS) bei den Kontrollmischungen am höchsten. Die berechneten AME_N -Gehalte weisen bei den Futtermischungen mit SM eine höhere Energiedichte aus. In den SM-Mischungen der Gowerperiode war der analysierte XL-Gehalt tendenziell niedriger als in den Kontrollmischungen. Durch die AS-Supplementierung auf Basis gemäß der Kontrollmischung, enthielt die Mischung SM+ niedrigere Gehalte an Lys, Met+Cys und Arg im Vergleich zur Kontrollmischung. Darüber hinaus waren die Mischungen SM+ und SM+AS in Bezug auf den His-Gehalt niedriger, was darauf hindeutet, dass dieses Angebot an His ein limitierender Faktor für diese Futtermischungen sein könnte.

Tabellenanhang 5 zeigt die Inhaltsstoffe der Futtermischungen der Kontroll- und der SM-Mischungen des Bilanzversuches 2.

Die Kontrollmischungen (Starter/Grower) basierten auf Weizen (33/36 %), Mais (16/18 %) und SES (39/33 %) als Hauptkomponenten (Tabellenanhang 5). In den experimentellen Futtermischungen wurde SES vollständig durch SM in der Starter- als auch Growerperiode ersetzt. Die Futtermischungen enthielten 24/21 % SM, um dem empfohlenen XP-Gehalt gerecht zu werden. Zusätzlich erfolgte bei den experimentellen Mischungen eine Ergänzung mit AS. Die mit AS ergänzte Mischung SM+AS bestand aus einem erweiterten Niveau an AS (z.B. Lys, Met, Arg, Thr, His) gemäß den aktuellen Empfehlungen (Wecke und Liebert, 2013), um das IAAR zu erfüllen. Zudem erfolgte in allen Mischungen eine Zugabe von Cys, zur Gewährleistung eines Verhältnisses von Met zu Cys von 1:1.

In einem weiteren Schritt wurde jeweils die Konzentration einer möglichen limitierenden AS der Mischung SM+AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt, um die Bedeutung der Supplementation zu demonstrieren und ggf. die Wirksamkeit dieser Aminosäuren weiter zu untersuchen. Dies fand bei folgenden drei AS statt: Lys, Met+Cys und His. In der Mischung SM-Lys wurde die Lys-Konzentration, in der Mischung SM-Met+Cys die Konzentration an Met+Cys und in der Mischung SM-His die His-Konzentration auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt. In Tabellenanhang 5 sind die experimentellen Futtermischungen des Bilanzexperimentes 2 verdeutlicht.

Tabellenanhang 5 zeigt die analysierten Nährstoffgehalte. Versuchsbedingt lagen die XP-Gehalte im selben Bereich. Die XF-Gehalte waren bei den Kontrollmischungen doppelt so hoch (56,5 g/kg TS bzw. 53,7 g/kg TS) wie bei den SM-Mischungen (23,0 g/kg TS bis 29,9 g/kg TS). Bei den XA-Gehalten lagen die Werte bei den Kontrollmischungen um ca. 20 % höher. Im Fall von den SM-Mischungen war der analysierte XL-Gehalt am niedrigsten bei einem Austauschniveau des SES durch 100 % SM.

4.4.2.2 Ferkel und Mastschweine

4.4.2.2.1 Versorgungsempfehlungen

Als Futtergrundlage für die Ferkel und Mastschweine dienen: Weizen, Gerste, SES, Sojaöl, Premix (Vitaminvormischung), Calciumcarbonat, Natriumchlorid und TiO₂ (Markersubstanz). Die Festlegung der Gehalte an XP, Lys, Energie, Ca, Na und P sowie die AS-Relationen basierten auf mehreren Literaturempfehlungen (BSAS, 2003; DLG, 2008; GfE, 2008; NRC, 2012; LNW, 2014).

Als Referenz für den Bedarf der Ferkel dienten die Angaben aus DLG (2008) und die AS-Relation von GfE (2008). Für den Lys-Gehalt wurden 1,27 % festgelegt. His wurde zu Lys in Relation von 34 % eingesetzt, was den Angaben von BSAS (2003) und NRC (2012) entspricht. Tabelle 18 zeigt die modifizierten Versorgungsempfehlungen für die Ferkel.

Tabelle 18: Versorgungsempfehlungen Ferkel

Nährstoffe	Ferkel 11-25 kg¹	
ME (MJ/kg)	13,4	
XP (%)	18,5	
Ca (%)	0,75	
P (%)	0,55	
Na (%)	0,15	
Aminosäure	AS-Relationen Ferkel (<30 kg)²	AS-Gehalte (%) Ferkel 11-25 kg⁴
Lys	100	1,270
His	34 ³	0,432
Ile	49	0,622
Leu	100	1,270
Met+Cys	50	0,635
Phe+Tyr	90	1,143
Thr	60	0,762
Trp	17	0,216
Val	62	0,787

¹ nach DLG (2008); ² nach GfE (2008); ³ nach BSAS (2003) und NRC (2012); ⁴ kalkulierte Werte.

Als Grundlage für den Bedarf der Mastschweine dienten vor allem die Bezugsgrößen aus LNW (2014), die modifiziert wurden, und die AS-Relation von GfE (2008). Der Lys-Gehalt lag in der Anfangsmast bei 1,07 % und verringerte sich systematisch bis zur Endmast (0,87 %). His wurde zu Lys in Relation von 35 % eingesetzt, was den Angaben von NRC (2012) entspricht. Tabelle 19 zeigt die modifizierten Versorgungsempfehlungen für die Mastschweine.

Tabelle 19: Versorgungsempfehlungen Mastschweine

Nährstoffe	Mastschweine (25-50 kg) ¹	Mastschweine (50-75 kg) ¹	Mastschweine (75-120 kg) ¹
ME (MJ/kg)	13,4	13,2	13,0
XP (%)	17,2	15,8	14,7
Ca (%)	0,65	0,58	0,52
P (%)	0,47	0,45	0,42
Na (%)	0,15	0,15	0,15

Aminosäure	AS-Relationen Schwein (>30 kg) ²	AS-Gehalte (%) Schwein 25-50 kg ⁴	AS-Gehalte (%) Schwein 50-75 kg ⁴	AS-Gehalte (%) Schwein 75-110 kg ⁴
Lys	100	1,070	0,940	0,870
His	35 ³	0,375	0,329	0,305
Ile	49	0,524	0,461	0,426
Leu	105	1,124	0,987	0,914
Met+Cys	51	0,546	0,479	0,444
Phe+Tyr	88	0,942	0,827	0,766
Thr	60	0,642	0,564	0,522
Trp	16	0,171	0,150	0,139
Val	65	0,696	0,611	0,566

¹ modifiziert nach LNW (2014); ² nach GfE (2008); ³ nach NRC (2012); ⁴ kalkulierte Werte.

4.4.2.2 Versuchsdiäten Wachstum Ferkel und Mastschweine

Beschrieben werden die Versuchsdiäten der Kontrollgruppen und die experimentellen Diäten mit SM der Wachstumsversuche 1 und 2 mit Ferkeln und Mastschweinen.

Bei den Versuchsmischungen der Ferkel und Mastschweine wurde ein festes Verhältnis der Getreidekomponenten (Weizen:Gerste von 1:1) durchgängig beibehalten, um eine Verschiebung der AS-Zusammensetzung aus den Getreidekomponenten zu verhindern. In den Ferkel- und Mastschweine- SM-Mischungen wurden die höchsten XL-Gehalte sowie Sojaöl-Anteile analysiert. Da der XP-Gehalt im SM höher als im SES war, wurden größere Mengen an Weizen und Gerste in den Futtermischungen benötigt, die den Energiegehalt der Mischungen zusätzlich erhöhten.

In Versuch 1 wurden – wie in Tabellenanhang 6 dargestellt – 50 % des SES von LM 11 kg bis 75 kg durch SM ausgetauscht, und von LM 75 - 120 kg wurden 100 % des SES ausgetauscht. Dabei erfolgte eine altersabhängige Anpassung der Rohprotein-, Energie-, Natrium- und Kalziumkonzentration. Die Kontrollmischungen wurden mit Lys, Met und Thr ergänzt. Die Ferkelmischung SM+ wurde mit den AS auf Basis gemäß der Kontrollmischung supplementiert. In den SM+AS-Mischungen wurde eine erweiterte Ergänzung dieser AS hinzugeführt, um dem IAAR (GfE, 2008) in jedem Altersabschnitt gerecht zu werden.

Die analysierten Nährstoffgehalte in Tabellenanhang 6 zeigen, dass in Versuch 1 der Gehalt an XP in der TS bei SM-Mischungen tendenziell höher war als in den Kontrollmischungen. Der XF-Gehalt lag tendenziell in den SM-Mischungen niedriger als in den Kontrollmischungen, mit Ausnahme der Mischung SM+AS im Versuchsabschnitt 50 - 75 kg LM. Beim Gehalt an XA konnten keine Tendenzen festgestellt werden. Die berechneten Energiegehalte zeigten, dass die Futtermischungen mit SM eine höhere Energiedichte erreichten.

In Versuch 2 betrug – wie in Tabellenanhang 7 dargestellt – die Austauschrate (SES durch SM) 75 % von LM 11 kg bis 75 kg und 100 % von LM 75 - 120 kg. Dabei erfolgte eine altersabhängige Anpassung der Rohprotein-, Energie-, Natrium- und Kalziumkonzentration. Die Kontrollmischungen wurden je nach Versuchsabschnitt u.a. mit Lys, Met und Thr ergänzt. Die Ferkelmischung SM+ basierte auf der AS-Zusammensetzung der Kontrollmischung. In den SM+AS-Mischungen wurde eine erweiterte Ergänzung dieser AS hinzugeführt, um dem IAAR (GfE, 2008) in jedem Altersabschnitt gerecht zu werden. Im Gegensatz zu Versuch 1 kam in den SM+AS-Futtermischungen zusätzlich His zum Einsatz.

Die analysierten Nährstoffzusammensetzungen in Tabellenanhang 7 zeigen, dass in Versuch 2 die Gehalte an XP, XF und XA – bezogen auf die TS bei SM-Mischungen – tendenziell niedriger waren als in den Kontrollmischungen. Die berechneten Energiegehalte legen dar, dass die Futtermischungen mit SM eine höhere Energiedichte erreichten.

4.4.2.3 Versuchsdiäten N-Bilanz Ferkel und Mastschweine

In diesem Kapitel werden die Versuchsmischungen mit SM der Ferkel und Mastschweine des Bilanzversuches 1 beschrieben (siehe Publikation Nr. III). In Tabellenanhang 8 sind die Futtermischungen und die analysierten Nährstoffe der Futtermischungen verdeutlicht.

In den experimentellen Futtermischungen waren die Hauptbestandteile Weizen, Gerste und SM. Folglich enthielten die SM-Futtermischungen 21 % SM (Ferkel) und 13 % SM (Mastschweine), um die empfohlenen XP-Gehalte (19 % Ferkel, 16 % Mastschweine) in den Mischungen zu erreichen. Mischung SM+ wurde mit Lys ergänzt, um 80 % der empfohlenen Lys-Versorgung zu gewährleisten (GfE, 2008). Mischung SM+AS wurde mit einer erweiterten AS-Supplementierung (Lys, Met, Thr) gemäß dem empfohlenen IAAR (GfE, 2008) in Ferkelmischungen verstärkt. In den Mastschweinemischungen wurde die Mischung SM+AS in der ersten Sammelperiode mit Lys ergänzt und in der zweiten Sammelperiode zusätzlich mit His (SM+AS_{His}), um dem angenommenen IAAR gerecht zu werden.

Die analysierten Nährstoffgehalte in Tabellenanhang 8 zeigen, dass im Bilanzversuch 1 der Ferkel und Mastschweine der Gehalt an XP und Energie – bezogen auf die Ferkelmischungen bzw. Schweinemischungen – identisch war. Auch der analysierte XF- und XA-Gehalt war in den jeweiligen Versuchsmischungen nahezu identisch.

4.5 Erfassung zootechnischer Parameter

Die Wachstumsparameter: tägliche Lebendmassezunahme (g bzw. kg), Futtermittelverzehr (g bzw. kg), Futteraufwand (g/g bzw. kg/kg), Proteinaufwand (g/g bzw. kg/kg) und Energieaufwand (kJ/g bzw. MJ/kg) wurden ermittelt, indem die Tiere und die Futterreste einmal wöchentlich gewogen wurden (Wachstumsversuche). Bei den Bilanzversuchen fand die Wägung der Tiere vor Beginn und am Ende jeder Sammelperiode statt. Die Futterreste wurden täglich zurückgewogen. Die anfänglich zugeteilte Futtermenge abzüglich des verbliebenen Restfutters im Trog führte zum Futtermittelverzehr, woraus sich die tägliche Futteraufnahme bestimmen ließ. Schließlich konnte der Futteraufwand (g/g bzw. kg/kg) aus den beiden Parametern tägliche Lebendmassezunahme und täglicher Futteraufnahme errechnet werden. Abgeleitet hiervon konnten auch der Proteinaufwand (g/g bzw. kg/kg) und der Energieaufwand (kJ/g bzw. MJ/kg) bestimmt werden.

Berechnung der täglichen Lebendmassezunahme - Wachstumsversuche

$$LMZ = \frac{(LM_{Versuchsende} - LM_{Versuchsbeginn})}{Anzahl\ Versuchstage}$$

wobei LMZ = tägliche Lebendmassezunahme [g/d]

LM = Lebendmasse [g]

Berechnung des Futteraufwandes - Wachstumsversuche

$$FA = \frac{FI}{LMZ}$$

wobei FA = Futteraufwand [gTS/g LMZ bzw. kgTS/kg LMZ]

FI = Futtermittelaufnahme [gTS/d bzw. kgTS/d]

LMZ = tägliche Lebendmassezunahme [g/d bzw. kg/d]

Berechnung des Proteinaufwandes - Wachstumsversuche

$$PA = FA * XP_{\text{Gehalt im Futter}}$$

wobei PA = Proteinaufwand [gTS/g LMZ bzw. kgTS/kg LMZ]

FA = Futteraufwand [gTS/g LMZ bzw. kgTS/kg LMZ]

XP = Rohproteingehalt im Futter [% XP in TS]

Berechnung des Energieaufwandes - Wachstumsversuche

$$EA = FA * Energie_{\text{Gehalt im Futter}}$$

wobei EA = Energieaufwand [kJ TS/g LMZ bzw. MJ TS/kg LMZ]

FA = Futteraufwand [gTS/g LMZ bzw. kg TS/kg LMZ]

Energiegehalt im Futter [ME MJ/kg TS]

Berechnung der mittleren Lebendmasse - Bilanzversuche

Die Wägung der Tiere erfolgte jeweils zu Beginn der Adaptationsperiode sowie zu Beginn und am Ende jeder Sammelperiode. Dabei stellte die End-LM der Tiere aus Sammelperiode I die Anfangs-LM für Sammelperiode II dar. Für die Auswertung der Bilanzdaten wurde die mittlere LM (MLM) verwendet.

Berechnung mittlere Lebendmasse (MLM)

$$MLM = \frac{(LM_{Versuchsende} + LM_{Versuchsanfang})}{2}$$

wobei MLM = Mittlere Lebendmasse [g bzw. kg]

LM = Lebendmasse [g bzw. kg]

4.6 Ganzkörperanalyse - Wachstumsversuche Broiler

Zur Bestimmung des Nährstoffansatzes wurden zu Beginn des Versuches aus Tierschutzgründen keine Eintagsküken (Nulltiere) getötet, sondern auf Daten aus früheren Untersuchungen mit gleicher Genetik zurückgegriffen (Pastor, 2014). Bei der Abschlusswiegung am Ende des Versuches wurden aus jeder Fütterungsgruppe jeweils vier repräsentative Tiere für die Ganzkörperanalysen ausgewählt. Die LM der ausgewählten Tiere entsprach dabei der mittleren LM der jeweiligen Box. Die ausgewählten Tiere wurden separiert, anschließend für 24 h genüchtert, am Ende der Nüchterungszeit mit CO₂ euthanasiert und im Anschluss daran erneut gewogen. Die Lagerung der Tiere bis zur weiteren Aufbereitung fand in Plastiktüten bei -20°C statt. Im nachfolgenden Schritt wurde jedes Tier zerkleinert und in Autoklaviergläser gegeben. Für die Nährstoffbestimmung der Ganzkörper erfolgte die Autoklavierung bei 110°C für 240 min. Nach dem Autoklavieren wurden die Proben mit Hilfe eines Fleischwolfs zerkleinert und homogenisiert, um anschließend TS, N und XA bestimmen zu können. Der XL-Gehalt ergab sich rechnerisch aus der Summe der auf die TS bezogenen Ergebnisse für den XP- und den XA-Gehalt, nach Subtraktion von 100. Im Tierkörper zählen vor allem Glucose und Glykogen zu den N-freien-Extraktstoffen (NfE). Der Anteil der NfE liegt bei nur 0,5 bis 1 % des Tierkörpers, sodass dieser bei der Berechnung der Ansatzparameter vernachlässigt werden kann. Diese Menge ist somit in der berechneten XL-Fraktion enthalten.

Die Berechnung des Nährstoffansatzes erfolgte über die Bildung der Differenz, der am Ende des Versuches im Tierkörper befindlichen Roh Nährstoffmenge und der Roh Nährstoffmenge der Referenztiere (Pastor, 2014) zu Beginn eines Versuches.

Berechnung der Nährstoffansätze (XP, XL, XA und GE)

$$\text{Nährstoffansatz (x)} = \frac{(\text{Menge (x)}_{\text{im Tierkörper Ende}} - \text{Menge (x)}_{\text{im Tierkörper Anfang}})}{\text{Anzahl Versuchstage}}$$

wobei (x) = bestimmter Nährstoffansatz

Nährstoffansatz (XP) = Rohproteinansatz [g/d]

Nährstoffansatz (XL) = Rohfettansatz [g/d]

Nährstoffansatz (XA) = Rohascheansatz [g/d]

Nährstoffansatz (GE) = Energieansatz [kJ/d]

Der Energieansatz wurde aus der Summe der angesetzten Energie aus Protein und Fett berechnet. Die Summe der Proteinenergie wurde gebildet aus der Multiplikation der Rohproteinansätze mit 23,7 kJ/g (Fuller, 2004), die Summe der Fettenergie ergab sich aus der Multiplikation der Rohfettansätze mit 39,8 kJ/g (Fuller, 2004).

Energieverwertung

$$\text{Energieverwertung} = \frac{\text{Energieansatz (kJ)}}{\text{Energieaufnahme (kJ)}} * 100$$

wobei Energieverwertung [%]

4.7 N-Ansatz

Nachfolgend werden die Formeln zur Berechnung des N-Ansatzes bei Wachstumsversuchen mit Hilfe von Ganzkörperanalysen (Broiler) bzw. durch N-Bilanzversuche (Broiler, Ferkel und Mastschweine) dargestellt. Der N-Ansatz erfolgt dabei über die Bildung der Differenz der am Ende im Tierkörper sich befindlichen N-Menge und zu Beginn im Tier befindlichen N-Menge bzw. aus der Differenz der N-Aufnahme über das Futter und N-Ausscheidungen über Kot und Harn.

N-Ansatz – Wachstumsversuche Broiler

$$ND = \frac{[(N - \text{Menge}_{\text{im Tierkörper Ende}} - N - \text{Menge}_{\text{im Tierkörper Anfang}}) / \text{Anzahl Versuchstage}]}{\text{metabolische Lebendmasse}}$$

wobei ND = N-Deposition [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

N-Ansatz – Bilanzversuche

$$ND = NI - NEX$$

wobei ND = N-Deposition [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

NI = N-Aufnahme [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

NEX = N-Exkretion [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

4.8 Proteinqualitätsparameter

Der produktive Eiweißwert (PPW) nach Müller und Hötzel (1957) bzw. der physiologische Proteinnutzwert (NPU) nach Bender und Miller (1953) sind von der Proteinqualität und der verzehrten Proteinmenge abhängig. Sowohl der PPW als auch der NPU beschreiben die Gesamtverwertung des Proteins und berücksichtigen dabei neben den Prozessen bei der Verdauung auch die im Intermediärstoffwechsel. Bei der Bestimmung des physiologischen Proteinnutzwertes wird zusätzlich berücksichtigt, dass nicht sämtlicher N, der im Harn und Kot ausgeschieden wird, direkt aus dem Futter stammt. Im Kot gelangen neben den unverdaulichen Futterrohproteinanteilen auch Stoffwechselprodukte zur Ausscheidung, die als Darmverlust-N (DVN) bezeichnet werden. Der N-Anteil im Harn, der aus dem ständigen Verschleiß der Eiweißsubstanzen im Tierkörper resultiert, wird als endogener Harn-N (EHN) bezeichnet. Dies bedeutet, dass beim NPU zusätzlich der N- Erhaltungsbedarf (NMR), der sich aus der Summe des DVN und EHN zusammensetzt, mit einfließt.

Produktiver Eiweißwert (PPW) / Proteinverwertung

$$PPW = \frac{ND}{NI} * 100$$

wobei PPW = Produktiver Eiweißwert [%]

ND = N-Deposition [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

NI = N-Aufnahme [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

Physiologischer Proteinnutzwert (NPU) / Nettoproteinverwertung

$$NPU = \frac{ND + NMR}{NI} * 100$$

wobei NPU = Physiologischer Proteinnutzwert [%]

ND = N-Deposition [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

NMR = N-Erhaltungsbedarf [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

NI = N-Aufnahme [mg/LM_{kg}^{0,67}/d]

Für den N-Erhaltungsbedarf wurde für die Broiler (Starter und Grower sowie Bilanz und Wachstum) ein Wert von $240 \text{ mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ angenommen (Wecke et al., 2016), der in Experimenten mit Masthähnchen des gleichen Genotyps ermittelt wurde. Für die Ferkel der Bilanzversuche betrug der Wert $433 \text{ mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ (Wecke und Liebert, 2009) und für die Bilanz Mastschweine kam der Wert $388 \text{ mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ zum Einsatz (Wecke und Liebert, 2010).

4.9 Göttinger N-Verwertungsmodell

Proteinqualitätsparameter wie der produktive Eiweißwert (PPW; Müller und Hötzel, 1957) oder der physiologische Nutzwert (NPU; Bender und Miller, 1953) erlauben zwar eine Evaluierung der Proteinqualität, unterliegen jedoch stark dem Einfluss der aufgenommenen N-Menge. Aus diesem Grund fand in der vorliegenden Arbeit ein nicht-lineares N-Verwertungsmodell Anwendung, das erstmals 1966 von Gebhardt vorgestellt und fortlaufend für verschiedene Spezies weiterentwickelt wurde (Thong und Liebert, 2004; Samadi und Liebert, 2007a, b; Liebert, 2008, 2015, 2017; Wecke und Liebert, 2009, 2010, 2013). Es ermöglicht die Bewertung der Proteinqualität unabhängig von der Höhe der N-Aufnahme. Basierend auf der nicht-linearen Beziehung zwischen der Höhe der N-Aufnahme und der Höhe der N-Retention ergeben sich folgende Zusammenhänge:

$$NR = NR_{\max}T (1 - e^{-b*NI}) \quad [1]$$

$$ND = NR_{\max}T (1 - e^{-b*NI}) - NMR \quad [2]$$

wobei NR	= N-Retention (ND+NMR) [$\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$]
$NR_{\max}T$	= theoretisches Maximum der NR [$\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$]
e	= Grundzahl der natürlichen Logarithmen [In]
NI	= N-Aufnahme [$\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$]
ND	= N-Ansatz [$\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$]
NMR	= N-Erhaltungsbedarf [$\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$]
b	= Anstieg der N-Retentionskurve, Ausdruck der Futterproteinqualität, unabhängig von der Höhe der NI

Der Modellparameter $NR_{\max}T$ ist artspezifisch und innerhalb der Art abhängig vom Genotyp, Geschlecht, von der LM und dem Alter und bezeichnet einen genetisch determinierten, theoretischen Grenzwert für das maximale tägliche N-Retentionsvermögen. Der Grenzwert

spiegelt das genetische Potenzial der Tiere für die N-Retention wieder, welches durch die mathematische Grenzwertschätzung (= theoretischer Grenzwert) ermittelt wird und unter normalen Produktionsbedingungen nicht erreicht werden kann. Der Modellparameter stellt somit einen Grenzwert oberhalb der Messwerte dar. Die Gleichung für den Modellparameter b , der die Bewertung der Futterproteinqualität, unabhängig von der aufgenommenen N-Menge ermöglicht, ergibt sich nach Umformung und Logarithmierung von Gleichung [1]: $NR = NR_{max}T (1 - e^{-b \cdot NI})$

$$b = \frac{[\ln NR_{max}T - \ln(NR_{max}T - NR)]}{NI} \quad [3]$$

In den Ergebnisdarstellungen erfolgt die Angabe des Parameters b multipliziert mit dem Faktor 10^6 , um übersichtlichere Zahlen vergleichen zu können. Die Variable b , die den Anstieg der N-Retentionskurve kennzeichnet, ist somit unabhängig von der N-Aufnahme und unmittelbar von der Qualität des eingesetzten Futterproteins abhängig, wenn nicht durch andere Nahrungsfaktoren eine Limitierung der Proteinverwertung erfolgt.

Die Berechnung des b -Wertes für die Broiler-Bilanztiere erfolgte durch die Annahme folgender Werte für $NR_{max}T$ = Starterperiode: 4240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d und Growerperiode: 3440 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Wecke et al., 2016). Für die Broiler-Wachstumstiere (gesamte Versuchsperiode) wurde ein Mittelwert aus dem $NR_{max}T$ -Wert der Starter- und Growerperiode zugrunde gelegt (3840 mg/LM_{kg}^{0,67}/d). In den Bilanzversuchen belief sich der $NR_{max}T$ -Wert für Ferkel auf 4697 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Wecke und Liebert, 2009) und für Mastschweine auf 3104 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Wecke und Liebert, 2010). Die verwendeten N-Erhaltungsbedarfswerte (NMR) sind unter 4.8 beschrieben.

$$NPU_{std}(\%) = \left[\frac{NR_{max}T * (1 - e^{-b * NI_{std}})}{NI_{std}} \right] * 100 \quad [4]$$

Für die Berechnung des standardisierten physiologischen Proteinnutzwertes (NPU_{std}) wurde eine standardisierte mittlere N-Aufnahme von 3000 mg/LM_{kg}^{0,67}/d für alle Broiler (Bilanz, Wachstum sowie Starter und Grower) zugrunde gelegt, um eine verbesserte Vergleichbarkeit zu bekommen. Die standardisierte mittlere N-Aufnahme betrug bei den Ferkeln (Bilanz) 3500 mg/LM_{kg}^{0,67}/d und bei den Mastschweinen (Bilanz) 3800 mg/LM_{kg}^{0,67}/d.

4.10 Bestimmung der Verdaulichkeit

Nachfolgend werden die Formeln zur Berechnung der scheinbaren fäkalen N-Verdaulichkeit auf Kotniveau beim Ferkel und Mastschwein sowie die scheinbare praecaecale Protein- und AS-Verdaulichkeit bei Masthähnchen und Ferkeln dargestellt.

Scheinbare N-Verdaulichkeit – Bilanzversuche Ferkel und Mastschweine

$$VQ_N = \left(\frac{I - F}{I} \right) * 100$$

wobei VQ_N = scheinbare Verdaulichkeit von N [%]

I = Aufnahme von N [g/d]

F = Ausscheidung von N über den Kot [g/d]

Die scheinbare N-Verdaulichkeit beschreibt die Differenz zwischen der aufgenommenen und der ausgeschiedenen N-Menge. Dabei ist zu beachten, dass eine gewisse Menge des N im Kot endogener Herkunft ist, weshalb der Wert auch nicht der wahren Verdaulichkeit entspricht.

Scheinbare praecaecale XP- und AS-Verdaulichkeit – Wachstumsversuche Broiler und Ferkel

Für die Berechnung der scheinbaren praecaecalen Verdaulichkeit (spcV) von XP oder einer spezifischen AS wurden die XP- oder AS- Konzentrationen in der Futtermischung und im Chymus mit den entsprechenden analysierten Markerkonzentrationen (TiO_2 in Futter oder im Chymus) nach folgender Gleichung ermittelt (Kluth und Rodehutschord, 2006):

$$spcV = 100 - 100 \frac{(TiO_2 \text{ Futter} * X_{Chymus})}{(TiO_2 \text{ Chymus} * X_{Futter})}$$

wobei spcV = scheinbare praecaecale Verdaulichkeit [%]

X = steht entweder für eine spezifische AS oder XP

$X = AS_{Futter}$ = AS-Konzentration im Futter [g/kg]

$X = AS_{Chymus}$ = AS-Konzentration im Chymus [g/kg]

$X = XP_{Futter}$ = XP-Konzentration im Futter [g/kg]

$X = XP_{Chymus}$ = XP-Konzentration im Chymus [g/kg]

$TiO_2 \text{ Futter}$ = Konzentration an Titandioxid im Futter [g/kg]

$TiO_2 \text{ Chymus}$ = Konzentration an Titandioxid im Chymus [g/kg]

Nach der Abschlusswiegung am Ende des Versuches wurden alle Masthähnchen innerhalb der darauffolgenden Tage getötet, um anschließend Chymusproben entnehmen zu können. Den

am jeweiligen Tag zu tötenden Tieren wurde das Futter am Abend des Vortages entzogen. Zwei Stunden vor dem Töten bekamen die Tiere das Futter wieder vorgesetzt. Damit sollte sichergestellt werden, dass genügend Darminhalt für die Probennahme vorhanden war. Die Messung der praecaecalen Verdaulichkeit erfolgte durch das Ausstreifen des Dünndarminhaltes aus den letzten 2/3 vom Meckel'schen Divertikulum bis ca. 2 cm vor dem Caecum in eine Petrischale. Die Proben von jeweils 4 - 5 Tieren wurden für die Analysen gepoolt (n = 4) gewogen, eingefroren und anschließend gefriergetrocknet und homogenisiert.

Die Ferkel wurden vor ihrer Schlachtung routinemäßig gefüttert. Für die Untersuchungen wurden je 4 Tiere pro beprobter Fütterungsgruppe wie in 4.1.2.1 beschrieben euthanasiert. Die Messung der praecaecalen Verdaulichkeit der Ferkel erfolgte durch die Entnahme des Chymus 150 cm vor der Ileocaecalklappe. Der Inhalt des Darmabschnitts wurde ausgestreift und in einer Petrischale gesammelt. Die Proben wurden gewogen und eingefroren. Anschließend wurden sie gefriergetrocknet und homogenisiert.

4.11 Durchführung der chemischen Analysen

Die erforderlichen Analysen der Proben für die Untersuchungen und ihre Auswertungen wurden im Labor der Abteilung für Tierernährungsphysiologie der Universität Göttingen durchgeführt. Zu den analytisch relevanten Analysen gehörten die Analyse der Futtermittel (Einzelkomponenten und Futtermischungen) sowie die analytische Bearbeitung des Tiermaterials (Exkremente, Chymus, Ganzkörper). In den Proben wurde der Nährstoffgehalt mit mindestens zwei Parallelen bestimmt. Eine Wiederholungsuntersuchung fand bei zu starker Abweichung der Variationskoeffizienten statt.

Aufarbeitung der Proben

Vor Beginn der Analysen der Futtermittel erfolgte eine Zerkleinerung sowohl der Einzelfuttermittelkomponenten als auch der Futtermischungen mittels eines 1,0 mm-Siebeinsatzes in einer Mühle. Zur AS-Bestimmung wurde ein Siebeinsatz von 0,5 mm gewählt. Für die Bestimmung des TS- und N-Gehaltes im Kot kam frischer Kot zum Einsatz. Auch für die Bestimmung des TS- und N-Gehaltes in den Exkrementen (Broiler) fanden frische Exkremente Verwendung. Sowohl die jeweiligen Proben des Kotes (Ferkel/Schwein) als auch der Exkremente (Broiler) wurden nach jeder Sammelphase mit Hilfe eines Stabmixers/Rührwerk homogenisiert, ggf. unter Zugabe von demineralisiertem Wasser. Für die Bestimmung der AS im Chymus wurde dieser zunächst gefriergetrocknet und anschließend mit Hilfe einer Kaffeemühle homogenisiert.

Ermittlung der Rohnährstoffe

Die Bestimmung der Rohnährstoffe in den Einzelfuttermittelkomponenten, Futtermischungen, Exkrementen, Kot, Harn, Ganzkörper und Chymus erfolgte auf Grundlage der Weender-Analyse. Diese fand anhand des Methodenbuches Band III des VDLUFA (Naumann und Bassler, 1976-2004) statt.

In den Einzelfuttermitteln und Futtermischungen wurden der TS-Gehalt sowie die Gehalte an XP, XL, XA und XF analysiert. Im Chymus sowie in den Exkrement- und Kotproben wurden der TS-Gehalt sowie der N-Gehalt bestimmt. Zur Analyse der Ganzkörper wurde der TS-Gehalt sowie der N- und XA- Gehalt bestimmt (siehe 4.6). Im Harn erfolgte nach der Homogenisierung die Ermittlung des N-Gehaltes.

Die Bestimmung der TS erfolgte durch die Trocknung im Trockenschrank bei 105°C. Zur Bestimmung der XA erfolgte die Veraschung der TS-Proben im Muffelofen bei 550°C. Das Prinzip der XL-Bestimmung basiert darauf, dass das Fett aus der Probe mit Petrolether nach vorhergehendem HCl-Aufschluss extrahiert wird. Das Lösungsmittel wurde destilliert und der Etherextrakt getrocknet und gewogen. Die Bestimmung von XF geschah nach Säure- und Laugenbehandlung durch das Veraschen.

Aus der Summe der durch die Weender-Analyse untersuchten Rohnährstoffe XP, XL, XA und XF, bezogen auf die TS, wurden schließlich die NfE rechnerisch ermittelt.

Bestimmung des N-Gehaltes

Die N-Menge im Futter, in den Frischexkrementen, Kot, Chymus und Ganzkörper wurde nach Homogenisierung mit dem Verfahren von DUMAS unter Verwendung des Stickstoff-Analysators TruMac® der Firma Leco Instrumente GmbH, Mönchengladbach, bestimmt. Das Messprinzip beruht auf einer vollständigen oxygenen Verbrennung der eingebrachten Probe bei einer Temperatur von 1050°C in reiner Sauerstoffatmosphäre. Nach Entfernung des freiwerdenden CO₂ und H₂O aus den Verbrennungsgasen wurden die verbleibenden Stickoxide (NO_x) mittels eines Katalysators zu molekularem Stickstoff (N₂) reduziert und anschließend von einer Wärmeleitfähigkeitszelle detektiert. Der Rohproteingehalt ergab sich abschließend durch Multiplikation des N-Gehaltes mit dem Faktor 6,25.

Die N-Analyse der Harnproben, der Ferkel und Mastschweine erfolgte nach dem Kjeldahl-Verfahren (Vapodest®, Gerhardt GmbH und Co.KG, Königswinter, Deutschland). Die Harnproben wurden unter Zugabe eines Katalysators (Kjeldahl-Tabletten) mit konzentrierter Schwefelsäure aufgeschlossen. Das freiwerdende Ammoniak wurde anschließend nach

Wasserdampfdestillation in eine borsäurehaltige Vorlage (4 %) überführt, durch Titration mit 0,25 N HCl quantitativ bestimmt und als N berechnet.

Ermittlung der Aminosäuren

Die Analyse der AS in den Einzelkomponenten und im Chymus erfolgte durch Ionenaustauschchromatographie mit dem automatischen Aminosäureanalysator Biochrom®30 der Firma Biochrom, Ltd, Cambridge, England. Diese Analytik benötigt eine salzsaure Hydrolyse sowie eine Vorbehandlung mit Perameisensäure. Vor der Säurehydrolyse (492 ml Salzsäure und 1 g Phenol auf 1 l Wasser) wurde eine Oxidationsmischung (H₂O₂ und 88 %-ige phenolhaltige Ameisensäure im Verhältnis 1:10) verwendet, um auch Met und Cys quantitativ bestimmen zu können. Als Pufferlösung nach der Hydrolyse fand eine Citratpufferlösung (PVP) Anwendung (pH = 2,20; bestehend aus Natriumcitrat, Salzsäure, Thiodiglycol und Wasser). Als interner Standard wurde Norleucin verwendet (20 µmol Norleucin in 1 ml PVP).

Ermittlung des TiO₂-Gehaltes

Zur Bestimmung des in den Futtermischungen und somit auch im Chymus enthaltenen TiO₂, welches als Marker diente, wurde eine Probe der Futtermischung zunächst vermahlen (1,0 mm Siebeinsatz). Der Chymus wurde homogenisiert. Zur anschließenden Bestimmung des Titangehaltes fand die Methode nach Brandt und Allam (1987) in modifizierter Form statt. Die Analyse lief dabei nach dem Kjeldahlaufschluss-Verfahren. Das Prinzip beruht darauf, dass TiO₂ in heißer, konzentrierter Schwefelsäure (H₂SO₄) langsam löslich ist und in schwefelsauren Lösungen mit Wasserstoffperoxid (H₂O₂) einen stabilen gelben Farbkomplex bildet. Dieser Farbkomplex wurde bei 405 nm photometrisch gemessen. Der Aufschluss erfolgte unter Zugabe eines Katalysators (Kjeldahl-Tabletten) mit konzentrierter Schwefelsäure (Chymus + K₂SO₄ + CuSO₄ + H₂SO₄ → 3 h kochen) im Aufschlussystem Vapodest® (Gerhardt GmbH und Co.KG, Königswinter, Deutschland).

4.12 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung des Datenmaterials kam das Programm IBM SPSS Statistics 24 zur Anwendung. Es wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ durchgeführt. Mittels des Levene-Testes wurde die Homo- bzw. Heterogenität der Varianzen festgestellt und abhängig davon der Tukey- oder Games-Howell post-hoc-Test angewandt. Ausreißer wurden nach Dixon und Massey (1969) oder nach dem SPSS „boxplot“ Verfahren erfasst. Die Ergebnisse werden als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) dargestellt, wobei verschieden hochgestellte Buchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen kennzeichnen.

Die statistischen Auswertungen erfolgten jeweils über die kompletten Versuchskomplexe (siehe angehängte Publikationen), d.h. auch die Futtermischungen mit *Hermetia illucens* wurden berücksichtigt. Für die Darstellungen der Ergebnisse in der vorliegenden Dissertation, die nur die Futtermischungen der Kontrolle und *Spirulina platensis* berücksichtigen, wurden die Signifikanzen über die komplette Versuchsauswertung angegeben.

5 Ergebnisse

In diesem Abschnitt erfolgt eine Darstellung der Ergebnisse innerhalb der ausgewählten Teiluntersuchungen (Auswahl siehe Tabelle 10 und 11 sowie 13 und 14). Sowohl die Hauptergebnisse der N-Bilanz- als auch der Wachstumsversuche der Broiler, Ferkel und Mastschweine (Kontrollmischungen und SM-Mischungen) werden hier wiedergegeben. Die Ergebnisse aller Versuchsgruppen, d.h. auch der Teiluntersuchungen mit Insektenmehl (*Hermetia illucens*), sind den jeweiligen Publikationen zu entnehmen.

5.1 Wachstumsversuche Broiler

Die zentralen Ergebnisse der Futtermischungen Kontrolle und der Mischungen mit SM der Broiler-Wachstumsversuche 1, 2 und 3 werden in diesem Abschnitt dargestellt. Detaillierte Ergebnisse zur Körperzusammensetzung der Broiler sind der Publikation **II** zu entnehmen. Um den Alterseinfluss zu berücksichtigen, werden einige Ergebnisse zusätzlich nach Starter- und Growerperiode differenziert veranschaulicht.

5.1.1 Zootechnische Parameter

In Tabelle 20 werden die wichtigsten zootechnischen Parameter der Wachstumsversuche 1, 2 und 3, differenziert nach Starter- und Growerphase, dargestellt. Die zootechnischen Parameter über die gesamten Versuchsperioden können der Publikation **II** entnommen werden. In Versuch 1 wurden 50 % des SES durch SM ersetzt. In Versuch 2 waren 75 % (Starter) bzw. 50 % (Grower) substituiert. Versuch 3 beinhaltete als Hauptproteinquelle der experimentellen Mischungen ausschließlich SM.

Wie Tabelle 20 zu entnehmen ist, zeigten die Broiler in den Starterperioden einen signifikanten Rückgang der LMZ bei der auf Basis der Kontrollgruppe supplementierten Futtermischung SM+ sowie den Futtermischungen mit der jeweils abgesenkten erstlimitierten AS im Vergleich zur Kontrolle und den mit AS supplementierten SM-Mischungen. Diese Beobachtungen spiegelten sich in einer geringeren End-LM und vermindertem Futterverzehr dieser Tiere bei allen drei Versuchen in der Starterperiode wieder. Im Wachstumsversuch 1 und 3 zeigten sich die Kontrollmischungen und die jeweils mit AS supplementierten SM+AS-Mischungen bei den Parametern LMZ und Futterverzehr auf vergleichbarem Niveau. Eine Ausnahme zu diesen Beobachtungen bildete Versuch 2. Hier erzielte die SM+AS-Mischung eine signifikant geringere End-LM als die Kontrollmischung, woraus auch eine signifikant geringere LMZ resultierte.

Tabelle 20: Zootechnische Parameter der Broiler in der Starter- und Growerphase der Wachstumsversuche 1-3

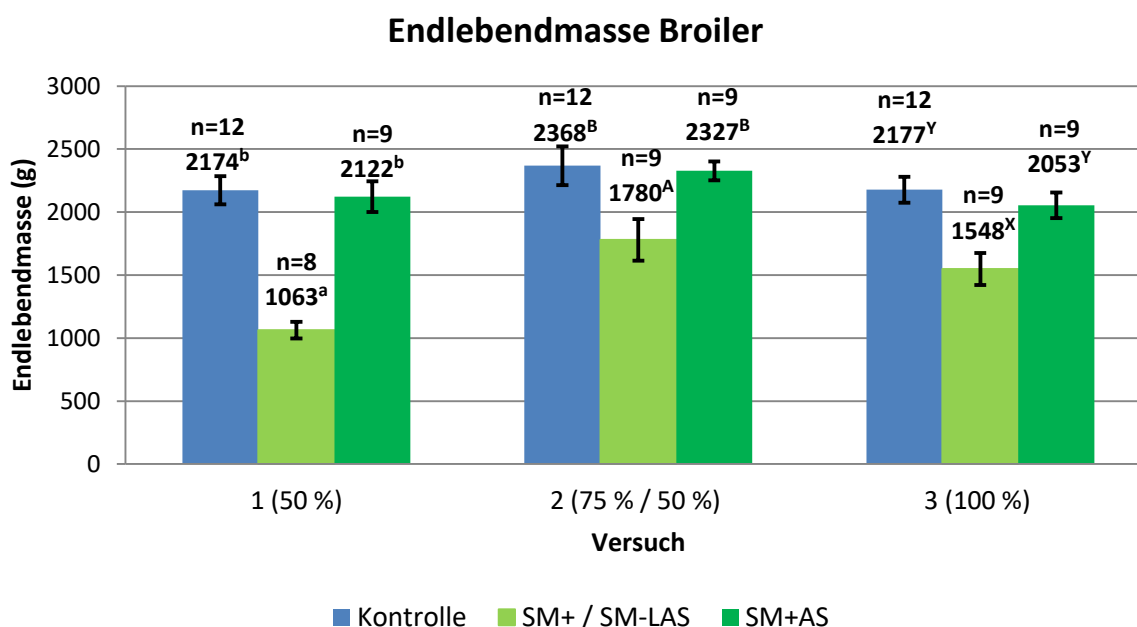
	Versuch 1 50 % SES-Austausch			Versuch 2 75 % / 50 % SES-Austausch			Versuch 3 100 % SES-Austausch		
	K	SM+	SM +AS	K	SM +AS	SM -LAS	K	SM +AS	SM -LAS
n	12	8*	9	12	9	9	12	9	9
<i>Starterperiode (0.-21. LT)</i>									
Lebendmasse Beginn (g)	47,5 ± 0,1	47,3 ± 0,1	47,3 ± 0,2	51,6 ± 0,3	51,7 ± 0,3	51,8 ± 0,1	45,5 ± 0,1	45,5 ± 0,1	45,5 ± 0,1
Lebendmasse- zunahme (g/d)	43,5 ^b ± 2,4	21,7 ^a ± 1,5	42,8 ^b ± 2,9	51,3 ^c ± 2,7	46,4 ^b ± 1,9	25,4 ^a ± 3,5	47,1 ^b ± 2,5	44,9 ^b ± 3,2	33,2 ^a ± 3,0
Lebendmasse Ende (g)	960,9 ^b ± 50,5	504,6 ^a ± 31,0	947,3 ^b ± 60,1	1129,4 ^c ± 57,5	1025,6 ^b ± 39,9	585,6 ^a ± 73,9	1033,8 ^b ± 52,1	989,3 ^b ± 67,9	742,3 ^a ± 61,9
Futter- verzehr (g/d)	54,3 ^b ± 3,8	38,1 ^a ± 3,4	52,6 ^b ± 4,6	58,6 ^b ± 2,5	46,4 ^b ± 1,9	40,5 ^a ± 5,9	55,7 ^b ± 2,7	55,4 ^b ± 2,5	40,7 ^a ± 4,1
Futter- aufwand (g/d)	1,25 ^a ± 0,11	1,70 ^b ± 0,10	1,23 ^a ± 0,04	1,14 ^a ± 0,04	1,20 ^b ± 0,02	1,61 ^c ± 0,29	1,18 ^a ± 0,03	1,24 ^a ± 0,07	1,23 ^a ± 0,07
<i>Growerperiode (21.-34./35. LT)</i>									
Lebendmasse- zunahme (g/d)	101,4 ^b ± 9,6	46,4 ^a ± 3,6	97,7 ^b ± 5,3	95,3 ^a ± 10,6	100,1 ^a ± 5,0	91,8 ^a ± 8,2	95,3 ^b ± 6,4	88,6 ^b ± 5,3	67,1 ^a ± 6,4
Lebendmasse Ende (g)	2173,7 ^b ± 112,2	1062,5 ^a ± 64,8	2121,8 ^b ± 121,6	2367,9 ^b ± 153,1	2326,8 ^b ± 75,0	1779,6 ^a ± 164,9	2177,3 ^b ± 103,8	2052,8 ^b ± 102,1	1547,6 ^a ± 128,1
Futter- verzehr (g/d)	145,0 ^b ± 8,0	96,0 ^a ± 4,5	144,4 ^b ± 9,0	148,8 ^b ± 14,2	138,4 ^{ab} ± 7,3	132,3 ^a ± 10,0	160,3 ^c ± 7,9	140,1 ^b ± 7,0	121,1 ^a ± 12,0
Futter- aufwand (g/d)	1,44 ^a ± 0,07	2,05 ^b ± 0,18	1,48 ^a ± 0,04	1,57 ^b ± 0,12	1,39 ^a ± 0,08	1,44 ^a ± 0,05	1,69 ^b ± 0,10	1,58 ^a ± 0,06	1,81 ^b ± 0,10

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; *Ausreißer ($p < 0,05$) im Futteraufwand bestimmt mit SPSS „boxplot Test“; K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Bezüglich des FA zeigte sich, dass in Versuch 1 die Mischung SM+ einen signifikant höheren FA als die Kontrolle und die SM+AS-Mischung aufwies. In Versuch 2 erzielte die Kontrolle den signifikant geringsten FA, gefolgt von der SM+AS-Mischung. Den signifikant höchsten FA wies die Mischung SM-LAS auf. Demgegenüber waren in Versuch 3 in der Starterperiode keine signifikanten Unterschiede im FA zwischen den Mischungen erkennbar.

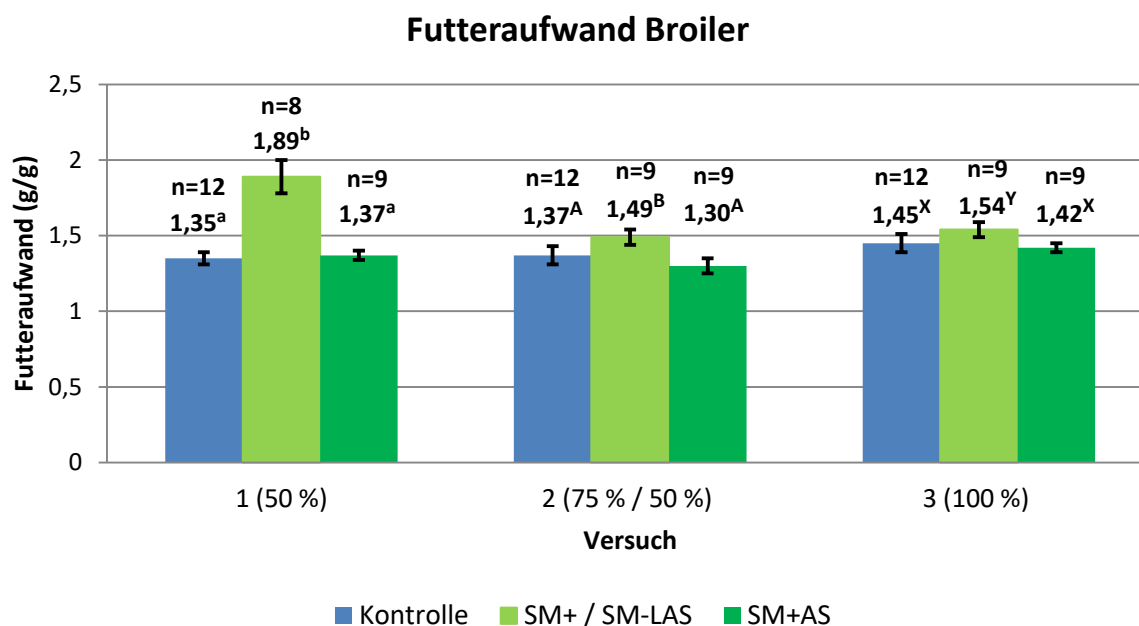
Die Ergebnisse der Growerperiode in Versuch 1 präsentierten parallele Signifikanzen zur Starterperiode der Futtermischungen. Bei Versuch 2 zeigten sich bei den LMZ keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen, wobei bei den End-LM die Mischung SM-LAS signifikant den geringsten Wert im Vergleich zur Kontrolle und Mischung SM+AS aufwies. Bezüglich der FI waren zwischen der Kontrolle und der SM+AS-Mischungen keine signifikanten Unterschiede erkennbar. Mischung SM-LAS zeigte eine signifikant schlechtere FI im Vergleich zur Kontrolle, nicht aber zur SM+AS-Mischung. Der FA war bei der Kontrollgruppe signifikant erhöht im Vergleich zu den Mischungen SM+AS und SM-LAS.

Abbildung 8: Endlebensmasse (Gesamtperiode) Wachstumsversuche 1-3



Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung (Versuch 1); SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt (Versuch 2 und 3); verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

In Abbildung 8 sind die End-LM der Broiler nach 34 (Versuch 1 und 3) bzw. 35 (Versuch 2) Masttagen veranschaulicht. Die Tiere der Kontrollmischungen und der SM+AS-Mischungen unterschieden sich nicht signifikant. Signifikante Einbußen der LM-Entwicklung verzeichnete in Versuch 1 die Mischung SM+ und in Versuch 2 und 3 die Mischungen SM-LAS. Im Versuch 1 nahmen die Tiere mit der Mischung SM+ 50 % weniger an LM zu als die Tiere mit der SM+AS-Mischung und der Kontrollmischung. Bei den Mischungen SM-LAS kam es in Versuch 2 zu einer geringeren LM im Gegensatz zur SM+AS-Mischung von 23,5 % und in Versuch 3 von 24,6 %.

Abbildung 9: Futteraufwand (Gesamtperiode) Wachstumsversuche 1-3

Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung (Versuch 1); SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt (Versuch 2 und 3); verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Die Abbildung 9 stellt den FA (g/g) der Broiler über die Gesamtversuchsperiode für Versuch 1, 2 und 3 dar. Innerhalb der Wachstumsversuche gab es keine signifikanten Differenzen zwischen der Kontrollmischung und der SM+AS-Mischung. Die Mischung SM+ des Versuches 1 zeigte einen statistischen Anstieg des FA. Diese Feststellung ließ sich auch für die Mischungen SM-LAS der Versuche 2 und 3 treffen.

5.1.2 Protein- und Energieaufwand sowie Parameter der Protein- und Energieverwertung

In Tabelle 21 werden der Protein- und Energieaufwand – differenziert nach Starter- und Growerperiode sowie über die gesamte Versuchsperiode der drei Wachstumsversuche – dargestellt. Tabelle 22 beschreibt die Protein- und Energieverwertung in Bezug auf die Gesamtversuchsperiode. Der als zentraler Maßstab der Futterproteinqualität gewählte Parameter NPU_{std} kann ergebnisseitig der Publikation II entnommen werden.

Tabelle 21: Protein- und Energieaufwand in den Versuchsabschnitten der Wachstumsversuche 1-3

	Versuch 1 50 % SES-Austausch			Versuch 2 75 % / 50 % SES-Austausch			Versuch 3 100 % SES-Austausch		
	K	SM+	SM +AS	K	SM +AS	SM -LAS	K	SM +AS	SM -LAS
n	12	8*	9	12	9	9	12	9	9
<i>Starterperiode (0.-21. LT)</i>									
Protein- aufwand (g/g)	0,31 ^a ± 0,03	0,34 ^b ± 0,02	0,29 ^a ± 0,01	0,28 ^a ± 0,01	0,31 ^b ± 0,00	0,41 ^c ± 0,08	0,29 ^a ± 0,01	0,32 ^b ± 0,02	0,31 ^{ab} ± 0,02
Energie- aufwand (kJ/g)	18,02 ^a ± 1,52	26,15 ^b ± 1,49	18,94 ^a ± 0,66	16,46 ^a ± 0,61	18,35 ^b ± 0,26	24,69 ^c ± 4,46	17,06 ^a ± 0,45	18,43 ^b ± 0,98	18,28 ^b ± 1,10
<i>Growerperiode (21.-34./35. LT)</i>									
Protein- aufwand (g/g)	0,32 ^a ± 0,02	0,43 ^b ± 0,04	0,32 ^a ± 0,01	0,35 ^b ± 0,03	0,32 ^a ± 0,02	0,33 ^{ab} ± 0,01	0,38 ^b ± 0,02	0,37 ^b ± 0,02	0,31 ^a ± 0,02
Energie- aufwand (kJ/g)	21,24 ^a ± 1,02	31,98 ^c ± 2,81	23,05 ^b ± 0,65	23,53 ^b ± 1,84	21,47 ^a ± 1,29	22,37 ^{ab} ± 0,84	25,30 ^a ± 1,45	24,36 ^a ± 0,98	27,82 ^b ± 1,50
<i>Gesamtperiode (0.-34./35. LT)</i>									
Protein- aufwand (g/g)	0,31 ^a ± 0,01	0,42 ^b ± 0,02	0,31 ^a ± 0,01	0,32 ^a ± 0,01	0,32 ^a ± 0,01	0,36 ^b ± 0,03	0,34 ^a ± 0,01	0,34 ^a ± 0,01	0,37 ^b ± 0,01
Energie- aufwand (kJ/g)	23,05 ^a ± 0,65	29,31 ^b ± 1,66	21,27 ^a ± 0,46	20,19 ^a ± 0,86	20,12 ^a ± 0,72	23,03 ^b ± 1,59	21,47 ^a ± 0,85	21,54 ^a ± 0,48	23,37 ^b ± 0,83

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; *Ausreißer ($p < 0,05$) im Futteraufwand bestimmt mit SPSS „boxplot Test“; K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Der Rohprotein- und Energieaufwand war nach Verabreichung der Mischung SM+ (Starterperiode, Versuch 1) signifikant höher gegenüber der Kontrolle und Mischung SM+AS. Bei Versuch 2 unterschieden sich beide Aufwandsparameter aller Mischungen signifikant voneinander. Dabei wies die Kontrollmischung die signifikant niedrigsten Werte auf, gefolgt von der SM+AS-Mischung. Die signifikant höchsten Werte verzeichnete die Mischung SM-LAS. In Versuch 3 unterschied sich der Proteinaufwand der Kontrollmischung signifikant von der Mischung SM+AS, nicht aber von der Mischung SM-LAS. Zwischen beiden SM-Mischungen (SM-LAS und SM+AS) gab es keine signifikanten Unterschiede. Der Energieaufwand dieser beiden Mischungen war ebenso auf vergleichbarem Niveau, er unterschied sich aber signifikant von der Kontrollmischung.

In der Growerperiode spiegelten sich die Ergebnisse des Proteinaufwandes (Versuch 1) der Starterperiode wieder. Die Mischungen K und SM+AS unterschieden sich signifikant von der Mischung SM+, die den höchsten Proteinaufwand bewirkte. Der Energieaufwand der Mischung K war signifikant am geringsten, gefolgt von der Mischung SM+AS. Der signifikant höchste Energieaufwand wurde in der Mischung SM+ gefunden. In Versuch 2 verhielten sich der Protein- und Energieaufwand in der Growerperiode parallel zueinander. Die Aufwandskennzahlen waren in der SM+AS-Mischung signifikant geringer als in der Mischung K, unterschieden sich aber nicht signifikant von der Mischung SM-LAS. In Versuch 3 war der Proteinaufwand in den Mischungen K und SM+AS signifikant höher als in der Mischung SM-LAS. Der Energieaufwand hingegen war in der Mischung SM-LAS signifikant höher als in den Mischungen K und SM+AS, die sich auf einem vergleichbaren Niveau befanden.

Über die gesamte Versuchsperiode aller drei Versuche fällt auf, dass ein erhöhter Proteinaufwand einen höheren Energieaufwand mit sich bringt. In Versuch 1 erzielte die SM+AS-Mischung den geringsten Protein- und Energieaufwand, unterschied sich dabei aber nicht signifikant zur Mischung K. Die Mischung SM+ wies signifikant die höchsten Aufwandsparameter im Gegensatz zur K- und SM+AS-Mischung auf. Der Proteinaufwand der SM+ Mischung war um 33 % höher als der Proteinaufwand der Mischung K. Der Energieaufwand war um 27 % höher in der Mischung SM+. In Versuch 2 verhielten sich die Ergebnisse der Aufwandsparameter parallel zu den Mischungen in Versuch 1. Die Aufwandskennzahlen waren in der Mischung SM+AS am geringsten, unterschieden sich nicht von der Mischung K, aber signifikant zur Mischung SM-LAS. Der Proteinaufwand der Mischung SM-LAS war 11 % und der Energieaufwand 14 % höher als in der Kontrollmischung. Die Ergebnisse des Versuches 3 zeigten Parallelen zu Versuch 1 und 2 auf. Hierbei war der Proteinaufwand der Mischung SM-LAS 8 % und der Energieaufwand 9 % höher als in der Kontrollmischung.

In Tabelle 22 ist die Protein- und Energieverwertung der Futtermischungen über die Gesamtversuchsperiode der Wachstumsversuche 1-3 dargestellt. In Versuch 1 erzielte die Mischung K signifikant den höchsten PPW-Wert im Vergleich zu den Mischungen SM+ und SM+AS. Die Mischung SM+ erreichte eine signifikant geringere Proteinverwertung im Gegensatz zur SM+AS-Mischung. Unter der Betrachtung der Größe NPU waren die Mischungen K und SM+AS ähnlich. Die SM+ -Mischung hingegen unterschied sich signifikant von K und SM+AS und erzielte den geringsten NPU-Wert. Die Energieverwertung

unterschied sich zwischen allen drei Mischungen signifikant voneinander. Die höchste Energieverwertung erreichte die SM+AS-Mischung (45,3 %), gefolgt von der Kontrollmischung (42,1 %) und der Mischung SM+ (28,9 %).

Tabelle 22: Parameter der Protein- und Energieverwertung (Gesamtperiode) in den Wachstumsversuchen 1-3

	Versuch 1 50 % SES-Austausch			Versuch 2 75 % / 50 % SES-Austausch			Versuch 3 100 % SES-Austausch		
	K	SM+	SM +AS	K	SM +AS	SM -LAS	K	SM +AS	SM -LAS
n	12	8*	9	12	9	9	12	9	9
Protein- verwertung PPW (%)	55,1 ^c ± 1,6	38,9 ^a ± 2,1	53,3 ^b ± 1,2	55,5 ^b ± 2,4	54,3 ^b ± 2,0	47,7 ^a ± 3,3	54,7 ^c ± 2,1	52,2 ^b ± 1,1	47,1 ^a ± 1,6
Nettoprotein- verwertung NPU (%)**	63,0 ^b ± 1,8	46,6 ^a ± 2,4	61,4 ^b ± 1,5	63,4 ^b ± 2,6	62,3 ^b ± 2,3	55,5 ^a ± 3,7	62,1 ^c ± 2,3	59,6 ^b ± 1,2	54,9 ^a ± 1,9
Energie- verwertung (%)	42,1 ^b ± 1,2	28,9 ^a ± 1,6	45,3 ^c ± 1,0	40,3 ^a ± 1,7	42,6 ^b ± 1,6	39,6 ^{ab} ± 2,6	38,8 ^a ± 1,5	41,3 ^b ± 0,9	38,1 ^a ± 1,4

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; *Ausreißer ($p < 0,05$) im Futteraufwand bestimmt mit SPSS „boxplot Test“; **NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimittierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

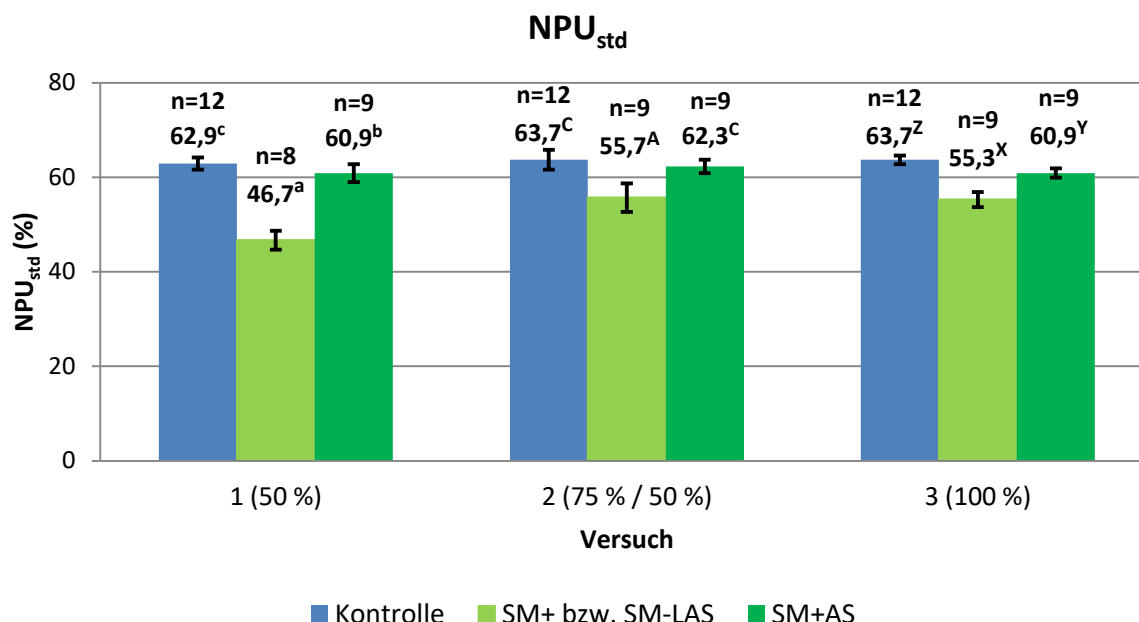
In Versuch 2 erreichten die Mischungen K und SM+AS mit 55,5 % und 54,3 % eine signifikant höhere Proteinverwertung als die Mischung SM-LAS (47,7 %). Bezüglich des NPU-Wertes erzielten die Mischungen K und SM+AS einen signifikant höheren Wert als die SM-LAS-Mischung. Die Energieverwertung der Mischung SM-LAS unterschied sich weder von der SM+AS-Mischung noch von der K-Mischung signifikant. Die Mischung K erzielte eine signifikant geringere Energieverwertung als die Mischung SM+AS.

Die Größen PPW und NPU verhielten sich wie erwartet in Versuch 3 parallel zu Versuch 2. Die signifikant höchsten PPW- und NPU-Werte erzielte die Kontrollmischung, gefolgt von der Mischung SM+AS. Den geringsten PPW- und NPU-Wert erbrachte die Mischung SM-LAS. Die Energieverwertung der Mischung K und SM-LAS zeigten ähnliche Werte (38,8 % und 38,1 %). Eine signifikant höhere Energieverwertung (41,3 %) erzielte die SM+AS-Mischung.

Proteinqualitätsparameter wie der produktive Eiweißwert (PPW) oder der physiologische Proteinnutzwert (NPU) erlauben eine Evaluierung der Proteinqualität, unterliegen jedoch stark dem Einfluss der aufgenommenen N-Menge. Aus diesem Grund wird die genauere

Betrachtung des nach dem „Göttinger Modell“ standardisierten physiologischen Nutzwert (NPU_{std}) in den engeren Fokus gestellt (Abbildung 10), was die Bewertung der Proteinqualität unabhängig von der Höhe der N-Aufnahme ermöglicht (Kapitel 4.9).

Abbildung 10: Ergebniszusammenfassung zu NPU_{std} Wachstumsversuche 1-3



Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; NPU_{std} = standardisierter physiologischer Proteinnutzwert, N-Aufnahme= 3000 mg/LM_{kg}^{0,67}/d, NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d und NR_{max}T= 3840 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung (Versuch 1); SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt (Versuch 2 und 3); verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

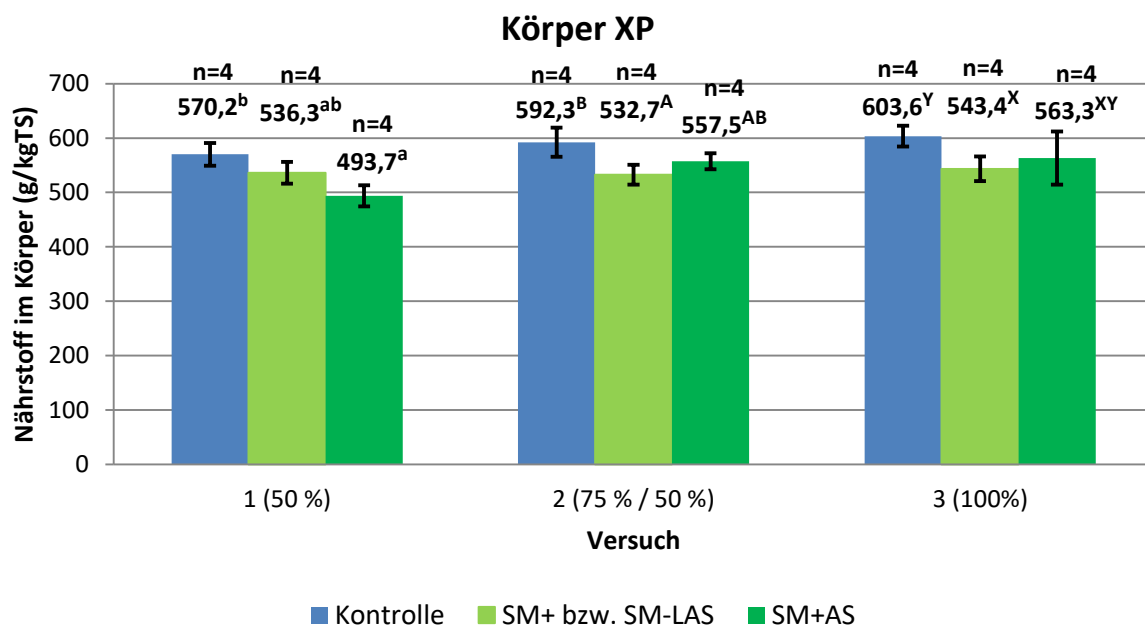
In Abbildung 10 wird der wichtigste Proteinqualitätsparameter (NPU_{std}), der unabhängig von der aufgenommenen N-Menge bestimmt wird, der Versuchsmischungen der Wachstumsversuche 1-3 aufgezeigt. Es konnte in allen drei Wachstumsversuchen gezeigt werden, dass die Proteinqualität der Mischungen mit SM bei nicht bedarfsgerechter AS-Versorgung (SM+ und SM-LAS) signifikant geringer war als in der Kontrollmischung. Im Vergleich zur Kontrolle war die Proteinqualität der Mischung SM+ in Versuch 1 um 25,8 % geringer. Die Proteinqualität der Mischung SM-LAS im Vergleich zur Kontrolle war in Versuch 2 um 12,6 % und in Versuch 3 um 13,2 % geringer. In Versuch 1 erzielte die Mischung K die signifikant höchste Proteinqualität mit 62,9 %. Die SM+AS-Mischung erreichte eine um 3,2 % signifikant niedrigere Proteinqualität. In Versuch 2 gab es keine signifikanten Differenzen bezüglich der Proteinqualität in den Mischungen K (63,7 %) und SM+AS (62,3 %), dennoch war die Proteinqualität um 2,2 % geringer. Die Proteinqualitätsabstufungen der Versuchsmischungen in Versuch 3 verhielten sich analog zu den Beobachtungen im Versuch 1. Hier erzielte die K-Mischung den signifikant höchsten

NPU_{std} (63,7 %). Die Proteinqualität der SM+AS-Mischung lag bei 60,9 % und damit um 4,4 % unter der Mischung K.

5.1.3 Ganzkörperzusammensetzung und Ansatzparameter

Die Ganzkörperzusammensetzung der Broiler nach 5-wöchiger Mast, ebenso wie die Ergebnisse zum Rohprotein- und Rohfettansatz, sind detailliert in Publikation II zu finden. Auszüge sind in Abbildung 11 und 12 zusammengefasst. Abbildung 13 und 14 zeigen den mittleren Rohprotein- und Rohfettansatz. Ergänzend sind in Tabelle 23 der Rohasche- und Energieansatz aufgeführt.

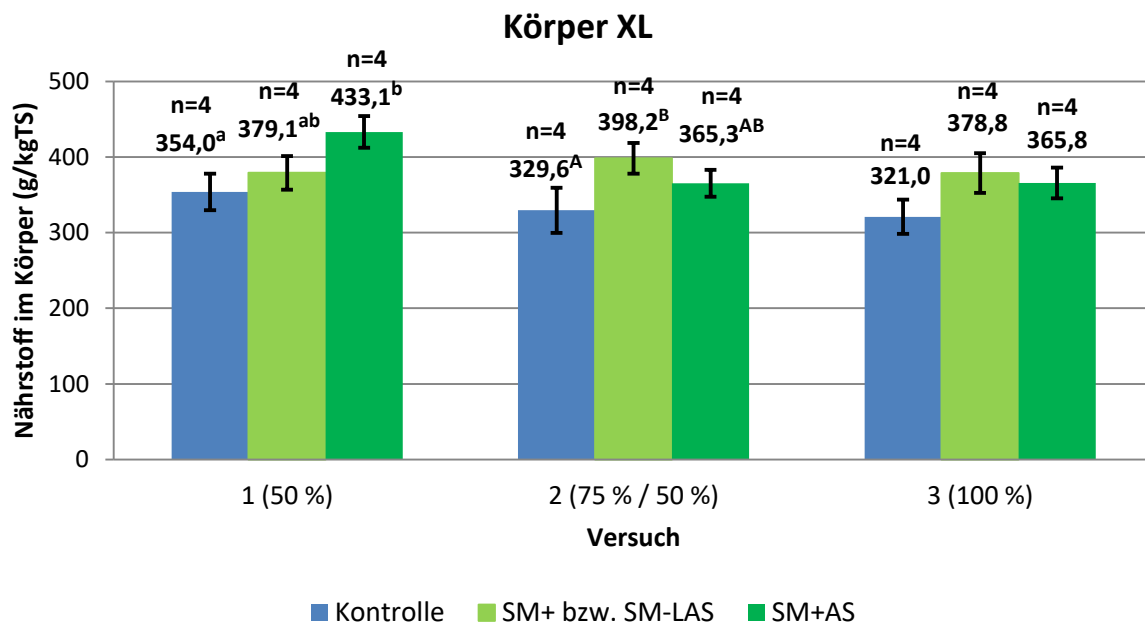
Abbildung 11: Ganzkörperzusammensetzung an Rohprotein (XP) Wachstumsversuche 1-3



Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung (Versuch 1); SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt (Versuch 2 und 3); verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

In Experiment 1 war ein signifikanter Effekt auf den XP-Gehalt in der TS der Ganzkörper nur zwischen der Kontroll- und SM+AS-Mischung zu beobachten. Broiler, die mit der Kontrollmischung gefüttert wurden, lieferten den höchsten XP-Gehalt, er unterschied sich jedoch nicht signifikant von der Mischung SM+. Der niedrigste XP-Gehalt wurde in der Mischung SM+AS beobachtet. Die XL-Gehalte in der TS korrespondierten in umgekehrter Reihenfolge (Abbildung 12). Der absolut höchste Wert für den XL-Gehalt bei Broilern mit Mischung SM+AS unterschied sich signifikant von der Kontrollmischung.

Abbildung 12: Ganzkörperzusammensetzung an Rohfett (XL) Wachstumsversuche 1-3

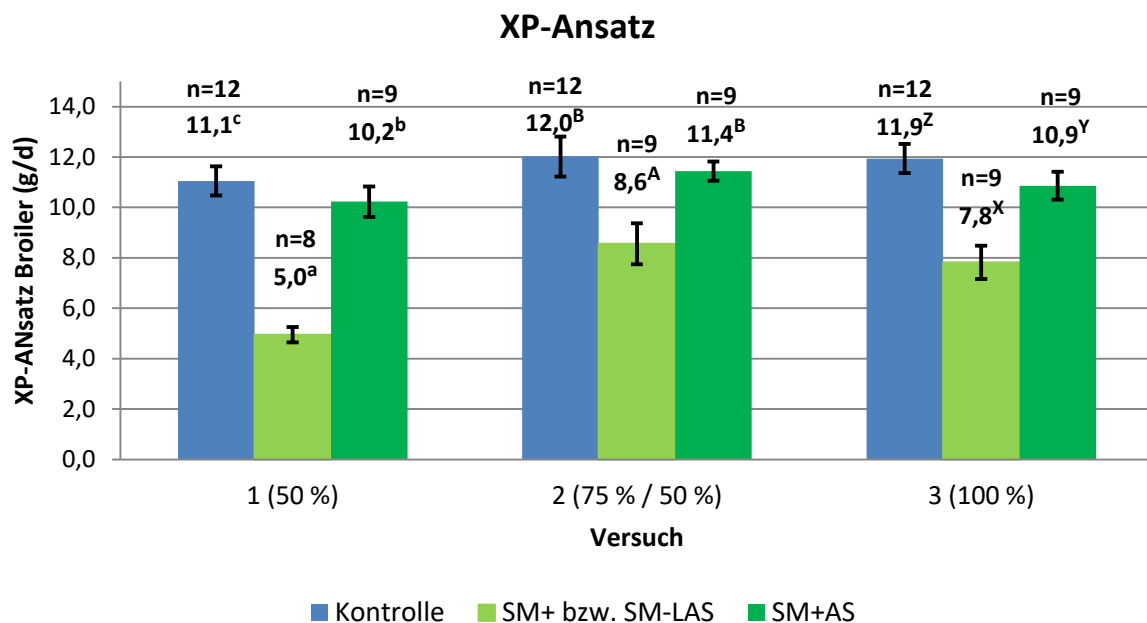


Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung (Versuch 1); SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt (Versuch 2 und 3); verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

In Experiment 2 waren der höchste XP-Gehalt und der entsprechend niedrigste XL-Gehalt in der TS auch in den Broilern der Kontrolle zu finden, aber die Werte unterschieden sich nicht signifikant von den Tieren, die mit der SM+AS-Mischung gefüttert wurden. Numerische Unterschiede wurden zwischen den Mischungen SM+AS und SM-LAS gefunden. Die SM-LAS-Mischung erreichte den höchsten XL-Gehalt in der TS.

Entsprechend den Beobachtungen aus Experiment 1 und 2 wurde in Experiment 3 der höchste XP-Gehalt in der Körper-TS für Broiler der Kontrollmischung gefunden, der sich signifikant von den Broilern der SM-LAS unterschied. Der Körper-XL-Gehalt war am niedrigsten bei Broilern, die mit der Kontrollmischung gefüttert wurden, wie auch in den Experimenten 1 und 2 zu beobachten war.

Abbildung 13: Rohproteinansatz der Broiler in den Wachstumsversuchen 1-3



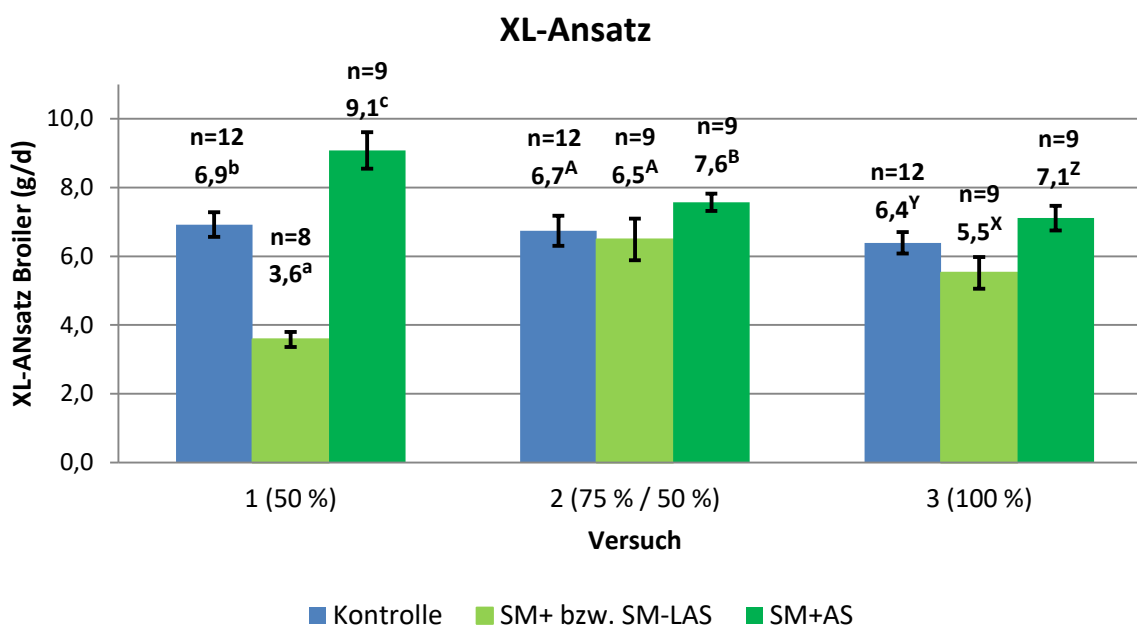
Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung (Versuch 1); SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt (Versuch 2 und 3); verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Der XP-Ansatz der Broiler in Versuch 1 war in der Kontrollgruppe mit 11,1 g/d signifikant am höchsten. Die Broiler, die die Mischung SM+AS gefüttert bekamen, hatten einen um 8 % niedrigeren XP-Ansatz pro Tag. Signifikant den geringsten XP-Ansatz mit 5,0 g/d verzeichneten die Tiere, die mit der Mischung SM+ gefüttert wurden. Dieser lag somit um 55 % unter der Kontrollgruppe.

Auch in Versuch 2 lag der numerisch höchste XP-Ansatz bei den Kontrolltieren (12,0 g/d). Dieser unterschied sich allerdings nicht signifikant von der Mischung SM+AS (11,4 g/d). Die Mischung SM-LAS erzielte den signifikant niedrigsten XP-Ansatz. Im Vergleich zur Kontrolle lag er 29 % unter dessen XP-Ansatz.

Der XP-Ansatz in Versuch 3 zeigte Parallelen zu Versuch 1. Den signifikant höchsten XP-Ansatz erzielten die Broiler der Kontrolle mit 11,9 g/d. Die Mischung SM+AS erzielte einen im Vergleich zur Kontrolle um 9 % signifikant niedrigeren XP-Ansatz.

Abbildung 14: Rohfettansatz der Broiler in den Wachstumsversuchen 1-3



Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung (Versuch 1); SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt (Versuch 2 und 3); verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Den signifikant höchsten XL-Ansatz in Experiment 1 verzeichnete die SM+AS-Mischung mit 9,1 g/d. Der XL-Ansatz der SM+AS-Mischung überstieg den der Kontrolle um 31 %. Den geringsten XL-Ansatz verzeichnete die Mischung SM+, die sich signifikant von den beiden anderen Mischungen unterschied.

In Versuch 2 erzielte die Mischung SM+AS den numerisch höchsten XL-Ansatz, dieser unterschied sich signifikant von der Mischung K und SM-LAS. Der XL-Ansatz der SM+AS-Mischung überstieg den XL-Ansatz der Mischung K um 13 %.

Parallelen zu Versuch 1 und 2 sind auch in Versuch 3 zu erkennen. Den signifikant höchsten XL-Ansatz mit 7,1 g/d erreichte die Mischung SM+AS im Vergleich zur Mischung K (6,4 g/d) und Mischung SM-LAS (5,5 g/d). Damit erbrachte die Mischung SM+AS einen um 11 % höheren XL-Ansatz als die Mischung K.

Tabelle 23: Rohasche- und Bruttoenergieansatz der Broiler in den Wachstumsversuchen 1-3

	Versuch 1 50 % SES-Austausch			Versuch 2 75 % / 50 % SES-Austausch			Versuch 3 100 % SES-Austausch		
	K	SM+	SM +AS	K	SM +AS	SM -LAS	K	SM +AS	SM -LAS
n	12	8*	9	12	9	9	12	9	9
XA-Ansatz (g/d)	1,5 ^b ± 0,1	0,8 ^a ± 0,1	1,5 ^b ± 0,1	1,6 ^b ± 0,1	1,6 ^b ± 0,1	1,1 ^a ± 0,1	1,5 ^c ± 0,1	1,4 ^b ± 0,1	1,1 ^a ± 0,1
GE-Ansatz (kJ/d)	537 ^b ± 28	260 ^a ± 16	604 ^c ± 35	553 ^b ± 36	572 ^b ± 19	461 ^a ± 43	537 ^b ± 26	540 ^b ± 27	405 ^a ± 34

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; *Ausreißer ($p < 0,05$) im Futteraufwand bestimmt mit SPSS „boxplot Test“; K= Kontrolle; XA= Rohasche; GE= Bruttoenergie; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

In Tabelle 23 sind zusätzliche Informationen zum Rohasche- und Bruttoenergieansatz der Broiler der Wachstumsversuche 1-3 zu finden. In Versuch 1 erzielten die Mischungen K und SM+AS einen ähnlichen XA-Ansatz, dieser unterschied sich zwischen diesen beiden Mischungen nicht signifikant. Die Mischung SM+ wies einen signifikant niedrigeren XA-Ansatz im Vergleich zu den beiden anderen Mischungen auf. Den signifikant höchsten GE-Ansatz verzeichnete die Mischung SM+AS mit 604 kJ/d. Dabei lag der Wert um 12 % höher als der GE-Ansatz der Mischung K. Signifikant den geringsten GE-Ansatz erzielte die Mischung SM+ mit 260 kJ/d.

In Versuch 2 hatte die Mischung K und die Mischung SM+AS den identischen XA-Ansatz von 1,6 g/d. Dieser XA-Ansatz unterschied sich signifikant von der Mischung SM-LAS (1,1 g/d). Die signifikant höchsten GE-Ansätze mit 553 kJ/d und 572 kJ/d erreichten die Mischungen K und SM+AS im Vergleich zur Mischung SM-LAS (461 kJ/d).

Den signifikant höchsten XA-Ansatz erbrachte in Versuch 3 die Mischung K mit 1,5 g/d, gefolgt von der Mischung SM+AS (1,4 g/d). Signifikant den geringsten XA-Ansatz erreichte mit 1,1 g/d die Mischung SM-LAS. Den signifikant geringsten GE-Ansatz verzeichnete die Mischung SM-LAS im Vergleich zu Mischung K und SM+AS. Die Mischungen K und SM+AS befanden sich bezüglich des GE-Ansatzes auf vergleichbarem Niveau und unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

5.1.4 Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit

Nachfolgend werden die Ergebnisse der scheinbaren praecaecale Rohprotein- und Aminosäurenverdaulichkeit ausgewählter Futtermischungen der Wachstumsversuche 1-3 dargestellt (Tabelle 24).

Tabelle 24: Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit Broiler (Wachstumsversuche 1-3)

	Versuch 1 50 % SES-Austausch		Versuch 2 75 % / 50 % SES-Austausch		Versuch 3 100 % SES-Austausch	
	K	SM+	K	SM -LAS	K	SM +AS
n	3*	4	3*	3*	3*	3*
spcV, XP (%)	75,2^b ± 3,9	60,9^a ± 6,2	76,8^b ± 1,3	71,3^a ± 0,8	75,8 ± 0,9	73,6 ± 1,2
Lys (%)	82,3 ^b ± 6,6	63,0 ^a ± 9,9	79,3 ± 1,2	80,4 ± 0,2	76,9 ± 3,5	79,6 ± 3,4
Met (%)	90,2 ± 3,7	83,3 ± 4,0	88,7 ^b ± 0,9	85,4 ^a ± 1,3	83,1 ± 2,4	84,2 ± 1,7
Met+Cys (%)	82,6 ^b ± 4,3	73,2 ^a ± 4,9	82,0 ^b ± 1,2	77,2 ^a ± 2,0	74,1 ^a ± 1,0	78,3 ^b ± 2,2
Thr (%)	73,2 ^b ± 7,5	56,1 ^a ± 9,0	70,5 ± 1,4	68,6 ± 1,6	62,6 ^a ± 1,4	67,5 ^b ± 1,6
Arg (%)	85,1 ^b ± 4,6	69,5 ^a ± 5,6	81,4 ± 1,6	75,7 ± 0,4	79,2 ^b ± 0,4	50,5 ^a ± 2,2
His (%)	82,9 ^b ± 5,3	70,4 ^a ± 6,3	79,4 ± 1,6	77,3 ± 0,6	77,3 ± 0,2	78,1 ± 3,1
Ile (%)	81,0 ^b ± 6,1	65,0 ^a ± 6,6	77,1 ^b ± 1,5	72,9 ^a ± 0,3	73,5 ^b ± 0,8	70,5 ^a ± 1,0
Leu (%)	81,4 ^b ± 5,6	68,2 ^a ± 5,8	77,6 ± 1,9	74,7 ± 0,5	74,1 ± 0,8	73,0 ± 1,44
Val (%)	78,4 ^b ± 6,7	60,3 ^a ± 7,1	77,1 ^b ± 1,5	70,6 ^a ± 0,4	68,9 ^b ± 1,1	60,3 ^a ± 0,5

Mittelwert ± SD; spcV= scheinbare praecaecale Verdaulichkeit; n= Stichprobenumfang; K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt; *Ausreißer Versuch 1 für K nach Dixon und Massay (1969) mit $\alpha=0,2$; Versuch 2 für K und SM-LAS jeweils ein Ausreißer bei der Indikatorbestimmung im Chymus; Versuch 3 für K nach Dixon und Massay (1969) mit $\alpha=0,05$ und SM-LAS mit $\alpha=0,1$; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p<0,05$).

In Versuch 1 (50 %-igen Austausch des SES durch SM) wies die Mischung SM+ eine signifikant geringere spcV des XP auf. Die spcV von Lys war in der K-Mischung signifikant höher. Bei Met lag sie in beiden Mischungen auf einem ähnlichen Niveau. Die spcV aller anderen AS war jeweils in der K-Mischung signifikant höher.

Bei einem 75 % / 50 % -igen SES-Austausch (Versuch 2) erreichte die SM-LAS-Mischung eine signifikant niedrigere spcV des XP im Vergleich zur Mischung K. Lys, Thr, Arg, His und Leu zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Verdaulichkeit zwischen den Mischungen. Die spcV von Met, Met+Cys, Ile und Val war in der Mischung K signifikant höher.

In Versuch 3 wurde die spcV des XP bei einer 100 %-igen Substitution des SES durch SM der Mischungen SM+AS und der Kontrollmischung ausgewertet. Die Mischung SM+AS, die im Broilerwachstumsversuch 3 zum Einsatz kam, zeigte keinen signifikanten Unterschied in der XP-Verdaulichkeit im Vergleich zur Mischung K. Die spcV für Met+Cys und Thr war in der SM+AS Mischung signifikant höher. Für die spcV für Arg, Ile und Val erreichte die Kontrollmischung signifikant höhere Ergebnisse. Keine statistischen Unterschiede gab es bei der spcV von Lys, Met, His und Leu zwischen der Kontrollmischung und der SM+AS-Mischung zu verzeichnen.

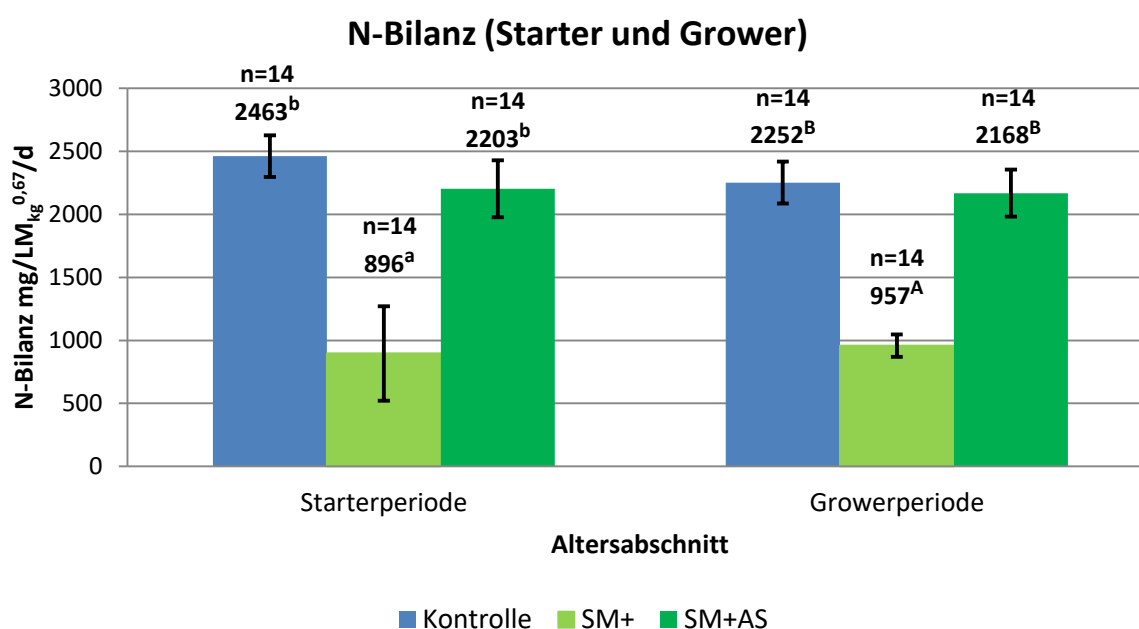
5.2 N-Bilanzmessungen Broiler

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Broiler-Bilanzversuche 1 und 2 dargestellt.

5.2.1 Bilanzversuch 1

Die Hauptergebnisse des Broiler-Bilanzversuches 1 mit den Futtermischungen Kontrolle, SM+ und SM+AS werden kurz dargestellt. Ausführliche Ergebnisse und deren Beschreibung sind der Publikation I zu entnehmen. In den Versuchsmischungen SM+ und SM+AS wurden jeweils 100 % des SES durch SM ersetzt. Abbildung 15 zeigt die N-Bilanz-Daten in der Starter- und Growerperiode.

Abbildung 15: Mittlere Ergebnisse der N-Bilanzmessungen (Starter und Grower) des Bilanzversuches 1

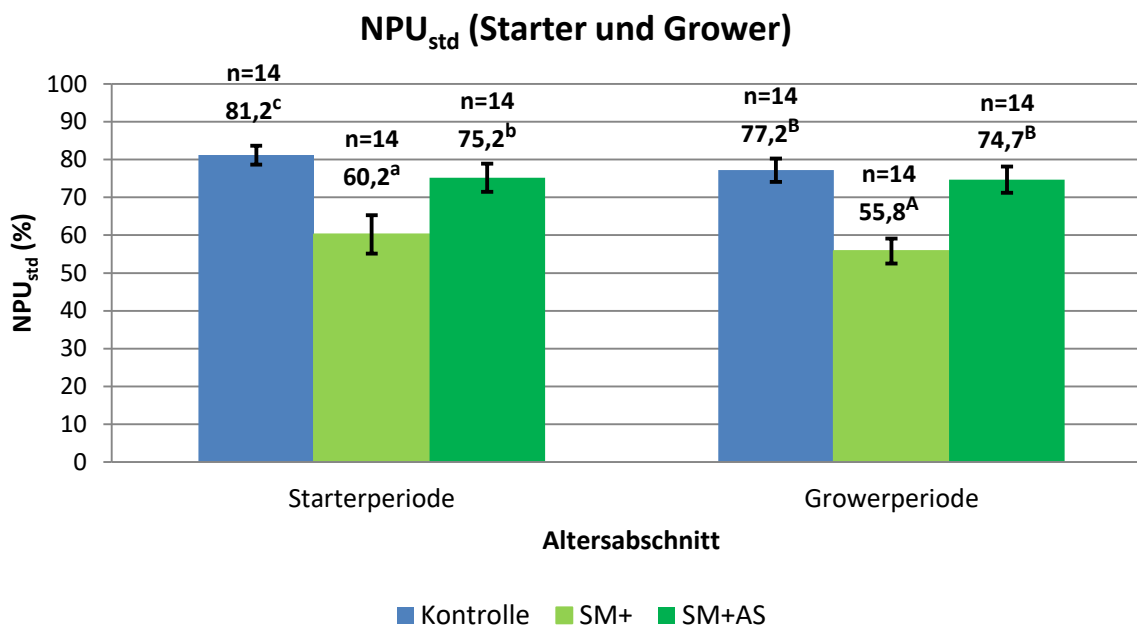


Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb der Starter- und Growerperiode ($p < 0,05$).

Die N-Bilanz-Werte zeigten sowohl in der Starter- als auch in der Growerperiode, dass die Futtermischungen SM+ eine signifikant niedrigere N-Bilanz gegenüber der Kontroll- und SM+AS-Mischungen aufwiesen. Die mit AS optimierten SM+AS-Futtermischungen erbrachten keine signifikanten Unterschiede, wobei die SM+AS-Futtermischung in beiden Altersabschnitten tendenziell geringere N-Bilanz-Werte im Vergleich zur Kontrolle zeigten. In Publikation I ist aufgezeigt, dass die Trockenmasse-Aufnahme (bis zu 77 % in der Starterperiode und bis zu 57 % in der Growerperiode) und N-Aufnahme (bis zu 51 % in der Starterperiode und bis zu 45 % in der Growerperiode) der SM+ -Tiere in beiden

Altersabschnitten signifikant geringer war als in den beiden anderen Futtermischungen. In Abbildung 16 wird der standardisierte physiologische Proteinnutzwert als Hauptproteinqualitätsparameter veranschaulicht.

Abbildung 16: Mittlere Ergebnisse der Proteinqualitätsbewertung über NPU_{std} (Starter und Grower) des N-Bilanzversuches 1



Mittelwert \pm SD; n=Stichprobenumfang; NPU_{std} = standardisierter physiologischer Proteinnutzwert, N-Aufnahme= 3000 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d und NR_{max}T Starter= 4240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d, NR_{max}T Grower= 3440 mg/LM_{kg}^{0,67}/d, SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb der Starter- und Growerperiode ($p < 0,05$).

Bei der Proteinqualität kam es bei den Futtermischungen SM+ in beiden Altersklassen zu einem signifikanten Einbruch, der durch die optimierte AS-Zulage in den Futtermischungen SM+AS kompensiert wurde. In der Starterperiode erzielte die Kontrolle signifikant die höchste Proteinqualität. Dabei lag die SM+AS-Mischung signifikant dahinter. In der Growerperiode kam es zu keinem signifikanten Unterschied zwischen der Kontroll- und der SM+AS-Futtermischung. Tendenziell lag die Proteinqualität der SM+AS-Mischung hinter der Kontrollmischung.

5.2.2 Bilanzversuch 2

Die Resultate von Bilanzversuch 2 mit den Futtermischungen Kontrolle, SM+AS sowie den drei Futtermischungen mit jeweils einer limitierenden AS werden in den Tabellen 25 bis 28 dargestellt. In den Versuchsmischungen mit SM wurden jeweils 100 % des SES durch SM ersetzt. Tabelle 25 sind die Ergebnisse der N-Bilanzstudie in der Starterperiode zu entnehmen.

Tabelle 25: Ergebnisse der N-Bilanzmessungen in der Starterperiode des Bilanzversuches 2

	K	SM+AS	SM -Lys	SM -Met+Cys	SM -His
n	7*	7*	8	7*	7*
Mittlere Lebendmasse (g)	548 ± 157	462 ± 135	412 ± 98	461 ± 122	455 ± 112
Mittlere Futtermischung (g/d)	64 ± 12	57 ± 14	48 ± 9	59 ± 11	54 ± 13
N-Aufnahme (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	3840 ± 139	3753 ± 348	3381 ± 444	3883 ± 333	3548 ± 522
N-Ausscheidung (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	1214 ± 85	1327 ± 205	1463 ± 218	1420 ± 202	1357 ± 266
N-Bilanz (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	2626^c ± 63	2426^{bc} ± 159	1918^a ± 266	2462^{bc} ± 143	2191^{ab} ± 273
N-Retention^{**} (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	2866^c ± 63	2666^{bc} ± 159	2158^a ± 266	2702^{bc} ± 143	2431^{ab} ± 273

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-Lys= SM mit Herabsetzen von Lys auf 80 % der Empfehlung; SM-Met+Cys= SM mit Herabsetzen von Met+Cys auf 80 % der Empfehlung; SM-His= SM mit Herabsetzen von His auf 80 % der Empfehlung; *Ausreißer nach Dixon und Massey (1969), für K, $\alpha=0,005$; SM+AS, $\alpha=0,001$; SM-Met+Cys, $\alpha=0,020$; SM-His, $\alpha=0,002$; **NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede der Parameter ($p<0,05$).

Es waren keine signifikanten Unterschiede in den LM der Tiere der verschiedenen Versuchsmischungen festzustellen. Ebenso wurden keine signifikanten Unterschiede in den Parametern mittlere LM, mittlere FI, N-Aufnahme und N-Ausscheidung gefunden. Die höchste N-Bilanz verzeichnete die Mischung K mit 2626 mg/LM_{kg}^{0,65}/d, die sich nicht signifikant von der Mischung SM+AS und SM-Met+Cys unterschied. Die signifikant geringste N-Bilanz erreichte die Mischung SM-Lys mit 1918 mg/LM_{kg}^{0,65}/d, die sich nicht signifikant von der Mischung SM-His unterschied, aber zu allen anderen Mischungen. Die N-Retention korrespondierte entsprechend der N-Bilanz.

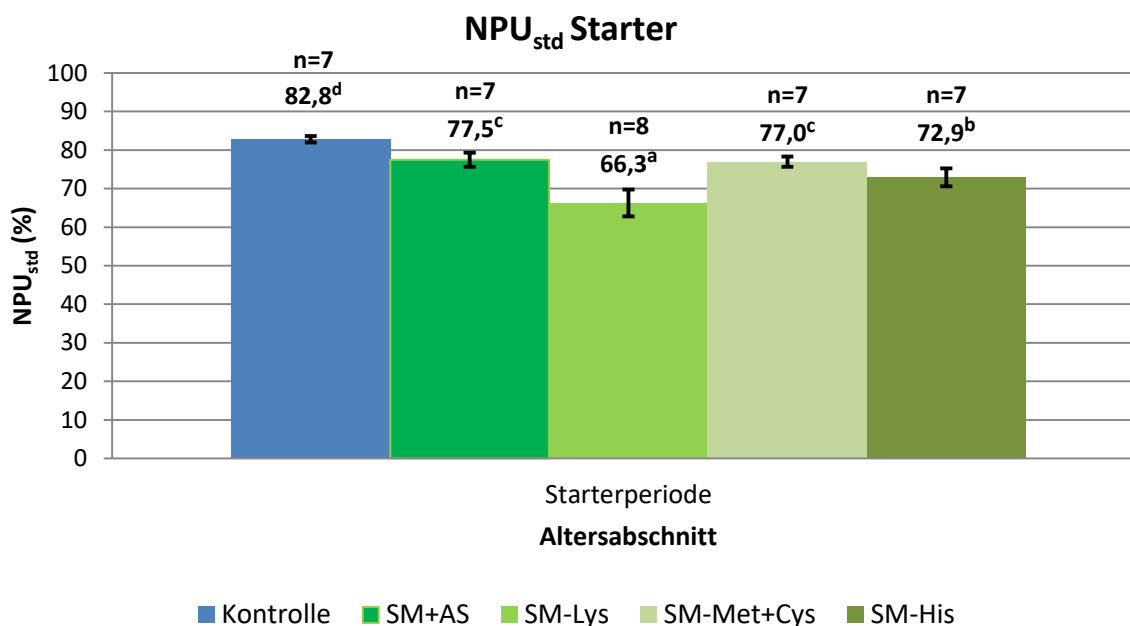
Tabelle 26: Abgeleitete N-Verwertungskennzahlen in der Starterperiode des Bilanzversuches 2

	K	SM+AS	SM -Lys	SM -Met+Cys	SM -His
n	7*	7*	8	7*	7*
Proteinverwertung PPW (%)	68,4 ^c ± 1,2	64,8 ^b ± 2,5	56,7 ^a ± 3,0	63,6 ^b ± 2,2	62,0 ^b ± 2,3
Nettoproteinverwertung NPU (%) ¹	74,7 ^c ± 1,4	71,2 ^{bc} ± 3,0	63,9 ^a ± 3,1	69,8 ^b ± 2,7	68,9 ^b ± 3,2
b-Wert (x10 ⁶) ²	294^d ± 5,0	265^c ± 9	212^a ± 15	262^c ± 7	242^b ± 11
Standardisierter Physiologischer Proteinnutzwert NPU _{std} (%) ³	82,8^d ± 0,9	77,5^c ± 1,8	66,3^a ± 3,5	77,0^c ± 1,3	72,9^b ± 2,3

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-Lys= SM mit Herabsetzen von Lys auf 80 % der Empfehlung; SM-Met+Cys= SM mit Herabsetzen von Met+Cys auf 80 % der Empfehlung; SM-His= SM mit Herabsetzen von His auf 80 % der Empfehlung; *Ausreißer nach Dixon und Massey (1969) für K, $\alpha=0,005$; SM+AS, $\alpha=0,001$; SM-Met+Cys, $\alpha=0,020$; SM-His, $\alpha=0,002$; ¹NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; ² verwendete Modellparameter: NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d, NR_{max}T= 4240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; ³NPU_{std}= standardisierter physiologischer Proteinnutzwert, N-Aufnahme= 3000 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede der Parameter ($p<0,05$).

In Tabelle 26 sind die Ergebnisse der N-Verwertungskennzahlen in der Starterperiode dargestellt. Bezüglich der Proteinverwertung (PPW) erreichte die Mischung K die signifikant höchste Proteinverwertung mit 68,4 %, gefolgt von den Mischungen SM+AS, SM-Met+Cys und SM-His, die sich nicht signifikant voneinander unterschieden. Die signifikant geringste Proteinverwertung erreichte die Mischung SM-Lys mit 56,7 %, die damit um 18 % unter der K-Mischung lag. Die Nettoproteinverwertung (NPU) korrespondierte nahezu identisch zum PPW, wobei die Mischung K und SM+AS auf einem Niveau waren. Die Proteinqualität, gekennzeichnet durch den b-Wert, zeigte die signifikant höchste Proteinqualität in der Mischung K. Danach folgte die SM+AS-Mischung und die Mischung SM-Met+Cys, die keine signifikanten Unterschiede zwischen einander zeigten. Eine signifikant niedrigere Proteinqualität wies die Mischung SM-His auf. Die signifikant geringste Proteinqualität ließ sich in der Mischung SM-Lys finden. Der NPU_{std} korrespondierte identisch zum b-Wert, was in Abbildung 17 verdeutlicht wird.

Abbildung 17: Mittlere Ergebnisse der Proteinqualitätsbewertung über NPU_{std} (Starter) des N-Bilanzversuches 2



Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; NPU_{std} = standardisierter physiologischer Proteinnutzwert, N-Aufnahme= 3000 mg/LM_{kg}^{0,67}/d, NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d, NR_{max}T= 4240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d ; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-Lys= SM mit Herabsetzen von Lys auf 80 % der Empfehlung; SM-Met+Cys= SM mit Herabsetzen von Met+Cys auf 80 % der Empfehlung; SM-His= SM mit Herabsetzen von His auf 80 % der Empfehlung; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb der Starterperiode ($p < 0,05$).

Signifikant den höchsten NPU_{std} verzeichnete die Mischung K mit 82,8 %. Dahinter folgte die Mischung SM+AS mit 77,5 % und die Mischung SM-Met+Cys mit 77,0 %. D.h. diese beiden Mischungen lagen 7 % bzw. 8 % hinter der Mischung K. Die Mischung SM-His unterlag den vorherig genannten Mischungen signifikant mit 72,9 %, so dass der NPU_{std} im Vergleich zur Mischung K um 12 % niedriger ausfiel. Den signifikant niedrigsten NPU_{std} erreichte die Mischung SM-Lys mit 66,3 %, was einer geringeren Proteinqualität im Vergleich zur Kontrolle von 21 % entsprach.

In Tabelle 27 sind die Ergebnisse der N-Bilanzstudie der Growerperiode zu entnehmen. Zwischen den Versuchsmischungen gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der mittleren LM. Den signifikant höchsten Futterverzehr im Vergleich zu allen anderen Mischungen erreichte die Mischung K. Auch die höchste N-Aufnahme war in der K-Mischung zu verzeichnen. Signifikant die geringste N-Aufnahme erreichte die Mischung SM-Lys. Die N-Aufnahme der Mischung SM-Lys lag somit um 19 % unter der Mischung K. In den N-Ausscheidungen waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mischungen festzustellen. Die signifikant höchste N-Bilanz erreichte die Mischung K, die sich allerdings

nicht signifikant von der Mischung SM+AS unterschied. Die Mischung SM-Lys wies die signifikant geringste N-Bilanz auf. Die N-Retention korrespondierte entsprechend der N-Bilanz.

Tabelle 27: Ergebnisse der N-Bilanzmessungen in der Growerperiode des Bilanzversuches 2

	K	SM+AS	SM -Lys	SM -Met+Cys	SM -His
n	8	6*	8	8	6*
Mittlere Lebendmasse (g)	1728 ± 294	1574 ± 220	1375 ± 208	1424 ± 238	1495 ± 172
Mittlere Futtermenge (g/d)	130 ^b ± 10	112 ^a ± 5	93 ^a ± 16	99 ^a ± 21	107 ^a ± 3
N-Aufnahme (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	3256 ^b ± 335	2982 ^{ab} ± 325	2660 ^a ± 406	2771 ^{ab} ± 431	2924 ^{ab} ± 276
N-Ausscheidung (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	1152 ± 81	1136 ± 129	1272 ± 239	1175 ± 207	1261 ± 98
N-Bilanz (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	2105^c ± 315	1847^{bc} ± 250	1387^a ± 219	1595^{ab} ± 288	1663^{ab} ± 214
N-Retention** (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	2345^c ± 315	2087^{bc} ± 250	1627^a ± 219	1835^{ab} ± 287	1903^{ab} ± 214

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-Lys= SM mit Herabsetzen von Lys auf 80 % der Empfehlung; SM-Met+Cys= SM mit Herabsetzen von Met+Cys auf 80 % der Empfehlung; SM-His= SM mit Herabsetzen von His auf 80 % der Empfehlung; *SM+AS ein Tier fraß nicht und ein Ausreißer nach Dixon und Massey (1969) $\alpha=0,2$; SM-His ein Tier fiel aus und ein Ausreißer nach Dixon und Massey (1969) $\alpha=0,3$; **NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede der Parameter ($p<0,05$).

In Tabelle 28 sind die Ergebnisse der N-Verwertungskennzahlen in der Growerperiode dargestellt. Der PPW war in der Mischung K signifikant am höchsten. Mit 64,4 % war der Unterschied zur Mischung SM+AS mit 61,8 % nicht signifikant. Die Mischung SM+AS unterschied sich signifikant zu der Mischung SM-Lys, nicht aber zu den Mischungen SM-Met+Cys und SM-His. Den niedrigsten NPU-Wert erreichte die Mischung SM-Lys mit 61,4 %, der sich signifikant nicht von den Mischungen SM-Met+Cys und SM-His unterschied. Unter Betrachtung der b-Werte und des NPU_{std} erreichte die höchste Proteinqualität die Mischung K, die sich nicht signifikant von der Mischung SM+AS unterschied. Eine Proteinqualität auf ähnlichem Niveau erreichten die Mischungen SM+AS, SM-Met+Cys und SM-His. Signifikant die geringste Proteinqualität war in der Mischung

SM-Lys zu verzeichnen, die sich allerdings nicht signifikant von den Mischungen SM-Met+Cys und SM-His unterschied.

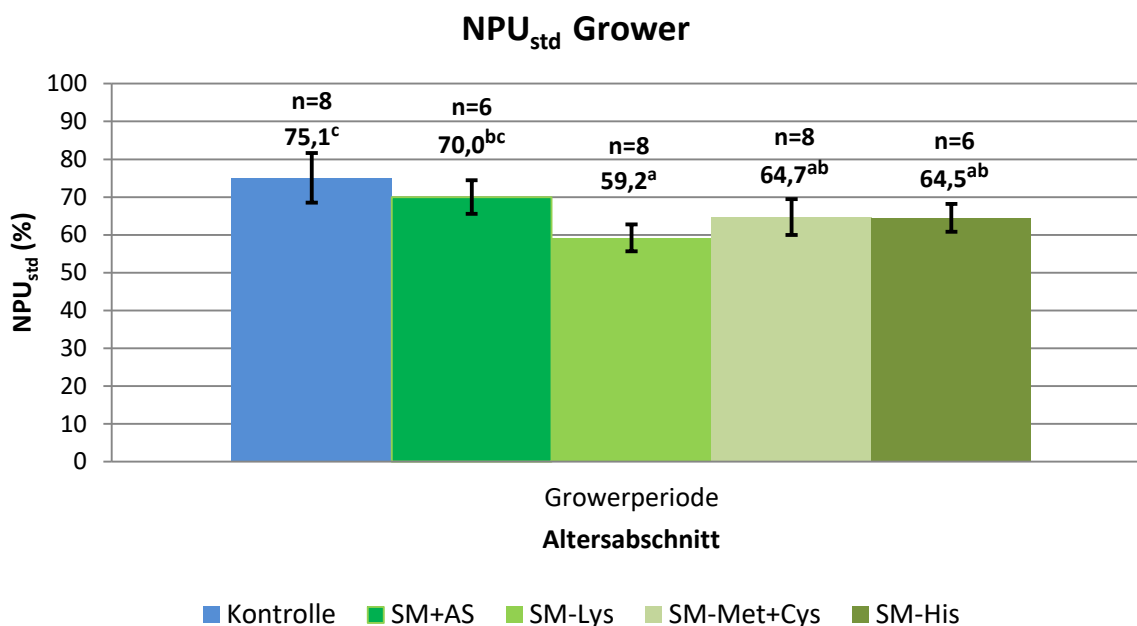
Tabelle 28: Abgeleitete N-Verwertungskennzahlen in der Growerperiode (Bilanzversuch 2)

	K	SM+AS	SM-Lys	SM-Met+Cys	SM-His
n	8	6*	8	8	6*
Proteinverwertung PPW (%)	64,4 ^c ± 3,7	61,8 ^{bc} ± 3,3	52,2 ^a ± 4,0	57,5 ^{ab} ± 4,2	56,7 ^{ab} ± 2,9
Nettoproteinverwertung NPU (%) ¹	71,8 ^c ± 3,1	70,0 ^{bc} ± 3,2	61,4 ^a ± 4,2	66,4 ^{abc} ± 4,3	65,0 ^{ab} ± 2,5
b-Wert (x10 ⁶) ²	359^c ± 56	316^{bc} ± 33	243^a ± 22	278^{ab} ± 31	277^{ab} ± 24
Standardisierter Physiologischer Proteinnutzwert NPU _{std} (%) ³	75,1^c ± 6,6	70,0^{bc} ± 4,4	59,2^a ± 3,6	64,7^{ab} ± 4,7	64,5^{ab} ± 3,7

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-Lys = SM mit Herabsetzen von Lys auf 80 % der Empfehlung; SM-Met+Cys= SM mit Herabsetzen von Met+Cys auf 80 % der Empfehlung; SM-His= SM mit Herabsetzen von His auf 80 % der Empfehlung; *SM+AS ein Tier fraß nicht und ein Ausreißer nach Dixon und Massey (1969) $\alpha= 0,2$; SM-His ein Tier fiel aus und ein Ausreißer nach Dixon und Massey (1969) $\alpha= 0,3$; ¹NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; ²verwendete Modellparameter: NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; NR_{max}T= 3440 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; ³NPU_{std}= standardisierter physiologischer Proteinnutzwert, N-Aufnahme= 3000 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede der Parameter ($p<0,05$).

Den signifikant höchsten NPU_{std} (Abbildung 18) verzeichnete die Mischung K mit 75,1 %, gefolgt von Mischung SM+AS (70,0 %), die sich nicht signifikant voneinander unterschieden. Die Mischungen SM-Met+Cys und SM-His waren auf einem vergleichbaren Niveau mit 64,7 % bzw. 64,5 % und unterschieden sich signifikant zur Mischung K. Den signifikant niedrigsten NPU_{std} erreichte die Mischung SM-Lys mit 59,2 %, das entspricht einem um 21 % geringeren NPU_{std} im Vergleich zur Mischung K.

Abbildung 18: Mittlere Ergebnisse der Proteinqualitätsbewertung über NPU_{std} (Grower) in Bilanzversuch 2



Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; NPU_{std} = standardisierter physiologischer Proteinnutzwert, N-Aufnahme= 3000 mg/LM_{kg}^{0,67}/d, NMR= 240 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; NR_{max}T= 3440 mg/LM_{kg}^{0,67}/d; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-Lys= SM mit Herabsetzen von Lys auf 80 % der Empfehlung; SM-Met+Cys= SM mit Herabsetzen von Met+Cys auf 80 % der Empfehlung; SM-His= SM mit Herabsetzen von His auf 80 % der Empfehlung; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb der Starterperiode ($p < 0,05$).

5.3 Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der Futtermischungen der Kontrolle und der Mischungen mit SM der Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine dargestellt. In Versuch 1 wurden 50 % des SES durch SM ersetzt und in Versuch 2 waren es 75 %.

5.3.1 Zootechnische Parameter und Aufwandparameter Ferkel

In Tabelle 29 sind die Ergebnisse der Versuche 1 und 2 zusammengefasst dargestellt.

Im Wachstumsversuch 1 hatten die mit der K-Mischung gefütterten Ferkel nach einer Versuchsdauer von 25 Tagen numerisch die höchsten End-LM. Statistisch abgesicherte Unterschiede lagen zwischen den Versuchsmischungen nicht vor. Bei der LMZ unterschied sich die K-Mischung signifikant von den beiden Mischungen mit SM. Die K-Mischung erzielte mit 521 g/d die höchste LMZ. Die Mischung SM+ erreichte den höchsten FA (1,60 g/g), dieser unterschied sich signifikant zur Mischung K (1,40 g/g), nicht aber zur Mischung SM+AS (1,53 g/g). Keinen signifikanten Unterschied gab es zwischen dem FA der Mischungen K und SM+AS. Die Mischung SM+ hatte damit einen um 14 % höheren FA im Vergleich zur Kontrolle. In Versuch 1 gab es keine nennenswerten Unterschiede im

Futtermittelverzehr und Proteinaufwand der verschiedenen Futtermischungen. Der Energieaufwand der beiden SM-Mischungen (SM+ und SM+AS) war im Vergleich zur Kontrollmischung höher.

Wurden 75 % des SES durch SM (Versuch 2) ausgetauscht, waren nach 21 Tagen keine signifikanten Unterschiede bei den End-LM zwischen den SM-Mischungen und der Mischung K erkennbar, obwohl die Ferkel mit Mischung K analog zu Versuch 1 am Versuchsende die numerisch höchste End-LM aufwiesen. Die LMZ nach Gabe der Mischung SM+ war um 20 % signifikant geringer als die LMZ der Mischung K. Zwischen der SM+AS-Mischung und der K-Mischung gab es keine gesicherten Unterschiede. Auch die beiden SM-Mischungen unterschieden sich in den LMZ nicht signifikant voneinander. Der Futtermittelverzehr war nach Verabreichung der Versuchsmischungen ähnlich. Statistisch nicht relevant war der höhere FA der Mischung SM+AS gegenüber der Mischung K. Beide Mischungen waren bezüglich des FA signifikant unterschiedlich zur Mischung SM+. Im Vergleich zur Kontrolle hatte die Mischung SM+ einen um 20 % höheren FA.

Tabelle 29: Zootechnische Parameter und Aufwandskennzahlen der Ferkel in Wachstumsversuch 1 und 2

	Versuch 1 50 % SES-Austausch			Versuch 2 75 % SES-Austausch		
	K	SM+	SM+AS	K	SM+	SM+AS
n	8	8	8	8	7*	8
Lebendmasse Beginn (kg)	8,8 ± 0,7	9,0 ± 0,9	8,9 ± 1,2	8,6 ± 1,0	8,7 ± 0,8	8,6 ± 1,0
Lebendmasse Ende (kg)	21,9 ± 1,5	19,3 ± 2,2	20,0 ± 2,1	17,9 ± 1,5	16,2 ± 0,9	16,9 ± 1,7
Lebendmasse- zunahme (g/d)	521,0 ^b ± 36,1	411,0 ^a ± 59,9	442,0 ^a ± 48,3	444,0 ^b ± 43,8	355,1 ^a ± 27,9	398,8 ^{ab} ± 49,5
Futtermittelverzehr (g/d)	732,6 ± 49,6	653,3 ± 74,0	670,9 ± 57,6	651,9 ± 22,5	626,9 ± 27,9	617,2 ± 42,7
Futtermittelaufwand (g/g)	1,40 ^a ± 0,10	1,60 ^b ± 0,13	1,53 ^{ab} ± 0,15	1,48 ^a ± 0,17	1,77 ^b ± 0,09	1,56 ^a ± 0,12
Proteinaufwand (g/g)	0,31 ± 0,02	0,33 ± 0,03	0,32 ± 0,03	0,32 ^a ± 0,04	0,39 ^b ± 0,02	0,35 ^{ab} ± 0,03
Energieaufwand (kJ/g)	21,42 ^a ± 1,52	25,61 ^b ± 2,13	24,44 ^b ± 2,40	22,53 ^a ± 2,59	29,21 ^c ± 1,42	25,72 ^b ± 1,91

Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; LM= Lebendmasse; LMZ= Lebendmassezunahme; *Ausreißer ($p < 0,05$) mit SPSS „boxplot Test“ in LM; K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; verschiedene Hochbuchstaben in einer Reihe kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Der Proteinaufwand war nach Gabe der Mischung K am geringsten. Er unterschied sich nicht signifikant zur Mischung SM+AS, aber zur Mischung SM+. Zwischen beiden SM-Mischungen gab es keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Proteinaufwandes. Den signifikant höchsten Energieaufwand erreichte die Futtermischung SM+ mit 29,21 MJ/kg. Ebenso signifikant unterschiedlich war der Energieaufwand der Mischung SM+AS (25,72 MJ/kg) und der Kontrollmischung mit dem geringsten Energieaufwand von 22,53 MJ/kg.

5.3.2 Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit Ferkel

In Tabelle 30 werden die Ergebnisse der scheinbaren praecaecalen Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit der Ferkelmischungen (Kontroll- und SM-Mischung) veranschaulicht.

In Versuch 1 (50 %-iger Austausch SES durch SM) gab es zwischen den Mischungen K und SM+ keine signifikanten Unterschiede in der scheinbaren praecaecalen XP-Verdaulichkeit, wobei die Mischung SM+ tendenziell einen höheren Wert aufwies. Die spcV der einzelnen AS in den Mischungen zeigte auch hier keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mischungen, wobei die scheinbar praecaecale AS-Verdaulichkeit in der Mischung SM+ tendenziell höher war.

Bei einem Austauschniveau des SES durch 75 % SM in Versuch 2 kam es zu keinem signifikanten Unterschied in der scheinbaren praecaecalen XP-Verdaulichkeit der Mischung K und SM+. Die Mischung K erzielte numerisch den höheren Wert. Den einzig festzustellenden signifikanten Unterschied bei der scheinbaren praecaecalen AS-Verdaulichkeit zeigte Arg. Der Beobachtungswert lag signifikant höher in der Kontrolle. Die Werte aller anderen AS waren zwischen den beiden Mischungen auf einem vergleichbaren Niveau.

Tabelle 30: Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit Ferkel (Wachstumsversuch 1 und 2)

	Versuch 1 50 % SES-Austausch		Versuch 2 75 % SES-Austausch	
	K	SM+	K	SM+
n	3*	2*	2*	3*
spcV, XP (%)	69,9 ± 10,9	76,2 ± 1,2	69,3 ± 1,1	68,3 ± 2,7
Lys (%)	80,2 ± 6,0	84,6 ± 0,3	78,7 ± 1,8	80,1 ± 3,2
Met (%)	79,7 ± 9,2	86,8 ± 0,8	82,1 ± 3,1	82,4 ± 1,1
Met+Cys (%)	73,2 ± 7,1	80,1 ± 1,0	72,1 ± 0,9	78,1 ± 2,5
Thr (%)	70,7 ± 7,2	76,0 ± 0,0	63,9 ± 5,8	70,5 ± 3,3
Arg (%)	79,4 ± 9,6	83,4 ± 1,1	79,9 ^b ± 1,3	71,2 ^a ± 2,8
His (%)	75,1 ± 9,7	82,8 ± 0,7	76,3 ± 0,6	76,0 ± 3,7
Ile (%)	74,4 ± 8,9	79,8 ± 2,1	73,5 ± 0,3	66,2 ± 3,7
Leu (%)	73,3 ± 9,8	80,8 ± 0,8	73,9 ± 0,3	69,9 ± 3,4
Val (%)	69,5 ± 10,8	76,6 ± 2,1	71,6 ± 1,9	66,2 ± 3,9

Mittelwert ± SD; spcV= scheinbare praecaecale Verdaulichkeit; n= Stichprobenumfang; K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; *Ausreißer in Versuch 1 für K ein Ausreißer bei der Indikatorbestimmung im Chymus, für SM+ ein Ausreißer bei der Indikatorbestimmung im Chymus und eine Probe weniger aufgrund von zu wenigem Material; in Versuch 2 für K zwei Proben weniger aufgrund von zu wenigem Material und für SM+ ein Ausreißer bei der Indikatorbestimmung im Chymus; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

5.3.3 Zootechnische Parameter und Aufwandparameter Mastschweine (25-75 kg)

In Tabelle 31 sind die zootechnischen Parameter und die Aufwandskennzahlen der Mastschweineversuche 1 und 2 dargestellt.

Tabelle 31: Zootechnische Parameter und Aufwandskennzahlen der Mastschweine in Wachstumsversuch 1 und 2

	Versuch 1 50 % SES-Austausch		Versuch 2 75 % SES-Austausch	
	K	SM+AS	K	SM+AS
n	8	8	8	7*
Lebendmasse Beginn (kg)	22,6 ± 2,3	22,6 ± 1,7	22,4 ± 1,5	22,2 ± 1,6
Lebendmasse Ende (kg)	76,8 ± 3,9	74,9 ± 2,4	70,6 ± 2,2	70,6 ± 1,0
Lebendmassezunahme (g/d)	966,5 ± 55,5	933,0 ± 31,2	982,1 ± 17,9	988,3 ± 25,3
Futtermittelverzehr (g/d)	1762,6 ± 39,1	1761,5 ± 44,8	1746,8 ± 14,7	1807,2 ± 32,4
Futtermittelaufwand (g/g)	1,83 ± 0,08	1,89 ± 0,04	1,78 ± 0,03	1,83 ± 0,06
Proteinaufwand (g/g)	0,35 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,34 ^a ± 0,01	0,35 ^b ± 0,01
Energieaufwand (kJ/g)	27,87 ^a ± 1,16	30,13 ^b ± 0,68	27,13 ^a ± 0,52	29,62 ^b ± 0,92

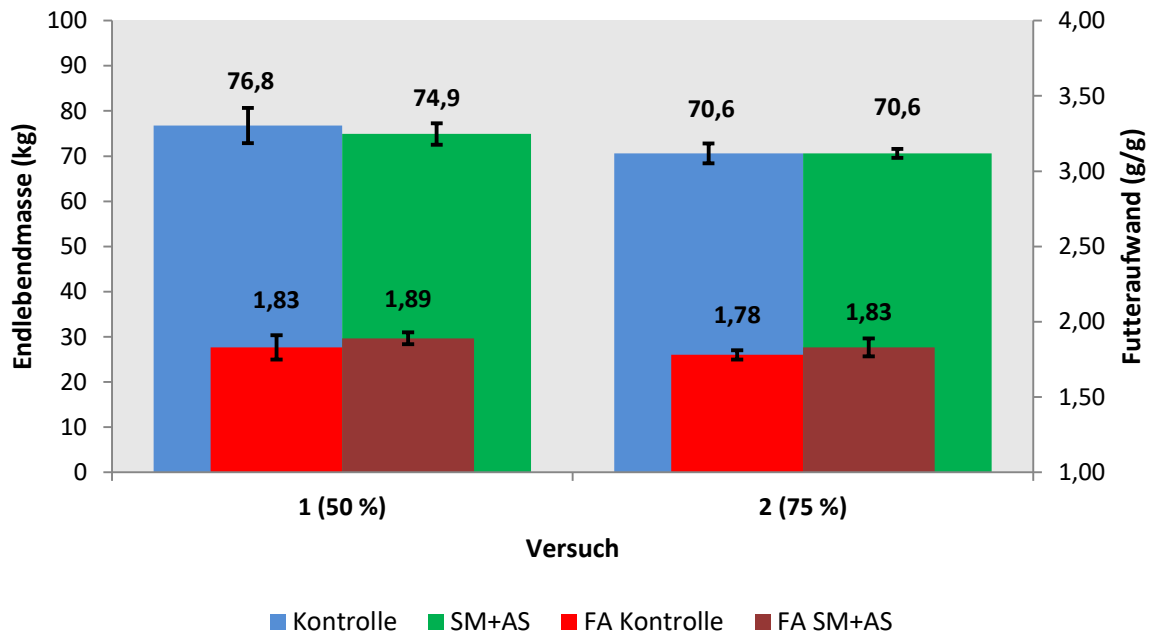
Mittelwert ± SD; n= Stichprobenumfang; *Ausreißer nach SPSS „boxplot Test“ ($p < 0,05$) in LM; K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Der Schweinemastversuch 1 (50 %-iger SES-Austausch durch SM) erstreckte sich über eine Versuchsdauer von 56 Tagen. Es gab keine signifikanten Unterschiede der Mischung K und der Mischung SM+AS in den Parametern End-LM, LMZ, Futtermittelverzehr, FA und Proteinaufwand. Tendenziell erreichte die SM+AS-Mischung geringere LMZ sowie einen geringeren Futtermittelverzehr und eine geringere End-LM. Der FA und der Proteinaufwand der Mischung SM+AS waren tendenziell erhöht. Einen signifikant höheren Wert beim Energieaufwand wies die Mischung SM+AS auf.

Bei einer Versuchsdauer von 49 Tagen und einem SES-Austausch von 75 % durch SM zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsmischungen in den Parametern End-LM, LMZ, Futtermittelverzehr und FA. Sowohl der Protein- als auch der Energieaufwand waren in der SM+AS-Mischung signifikant höher im Vergleich zur

Mischung K. Die SM+AS-Mischung hatte somit einen um 5 % größeren Proteinaufwand und einen um 9 % größeren Energieaufwand im Gegensatz zur Mischung K. In Abbildung 19 sind die mittleren End-LM und der FA der Mischungen der beiden Versuchsdurchgänge veranschaulicht.

Abbildung 19: Mittlere Endlebensmasse (kg) und Futteraufwand (g/g) der Mastschweine in Abhängigkeit vom SES-Austausch (Wachstumsversuch 1 und 2)

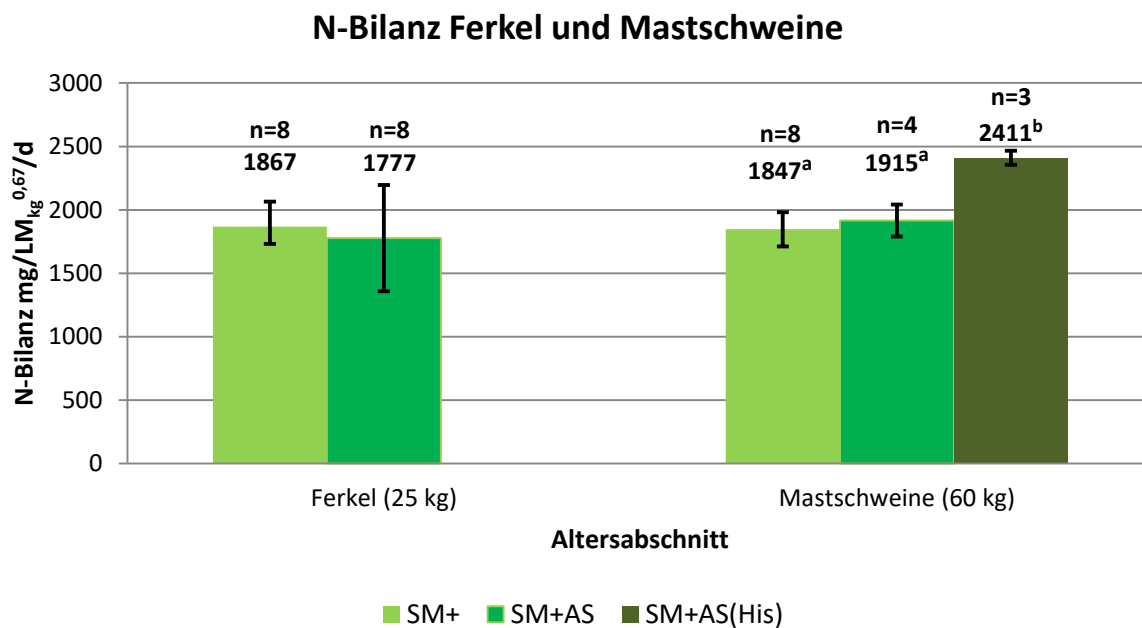


Mittelwert \pm SD; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; FA= Futteraufwand.

5.4 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine

Die Hauptergebnisse der Bilanzversuche 1 (Ferkel und Mastschweine) mit den Futtermischungen SM+ und SM+AS werden zusammenfassend dargestellt, eine ausführliche Übersicht zu Ergebnissen und deren Diskussion sind der Publikation **III** zu entnehmen. In den Versuchsmischungen SM+ und SM+AS wurden jeweils 100 % des SES durch SM ersetzt. Abbildung 20 zeigt die N-Bilanzdaten der Ferkel und Mastschweine.

Abbildung 20: Mittlere N-Bilanz-Ergebnisse (Versuch 1, Ferkel und Mastschweine)

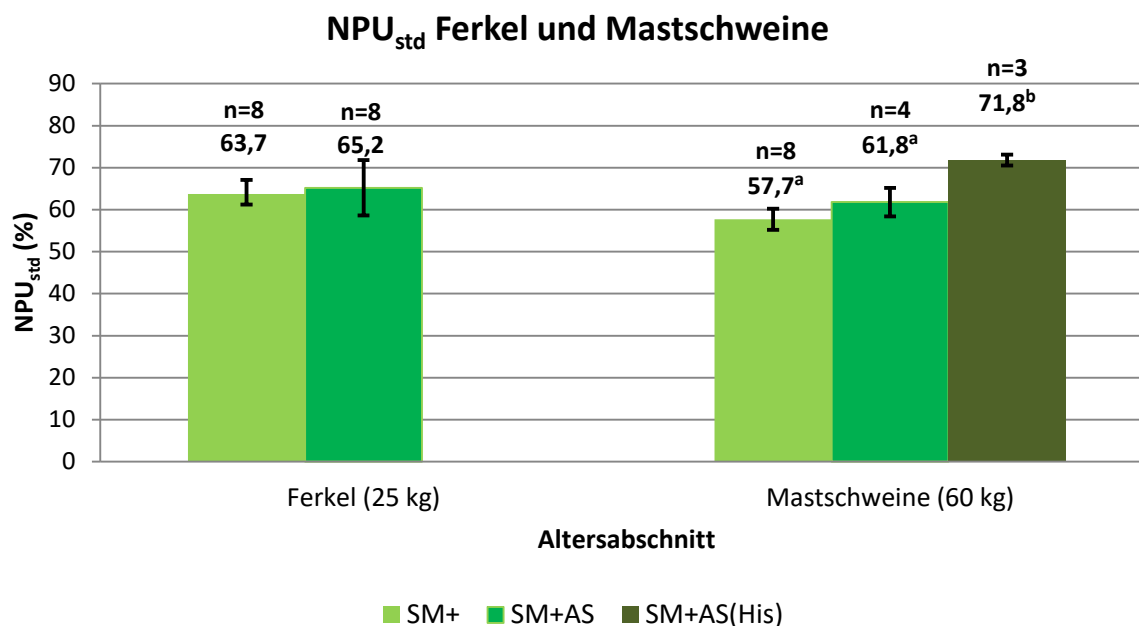


Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM+AS_{His}= SM mit erweiterter AS-Supplementierung und zusätzlich His; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Die Höhe der täglichen N-Bilanz lag bei den Ferkeln in den Mischungen SM+ und SM+AS auf ähnlichem Niveau, wobei die Mischung SM+AS tendenziell zu einer geringeren N-Bilanz führte. Bei den Mastschweinen zeigten die Mischungen SM+ und SM+AS ähnliche N-Bilanz-Daten und unterschieden sich nicht signifikant voneinander, wobei die Mischung SM+AS eine tendenziell höhere N-Bilanz aufwies als die Mischung SM+. Eine signifikante Steigerung der N-Bilanz verzeichnete die Mischung SM+AS_{His} im Vergleich zu den anderen beiden Versuchsmischungen. Die N-Bilanz lag in der Mischung SM+AS_{His} ca. 26 % höher als in den Mischungen SM+ und SM+AS.

Eine endgültige Bewertung der Effekte der AS-Ergänzung kann aber nur anhand der in Abbildung 21 dargestellten Proteinqualitätsparameter (NPU_{std}) erfolgen.

Abbildung 21: Mittlere Ergebnisse der Proteinqualitätsbewertung über NPU_{std} (Versuch 1, Ferkel und Mastschweine)

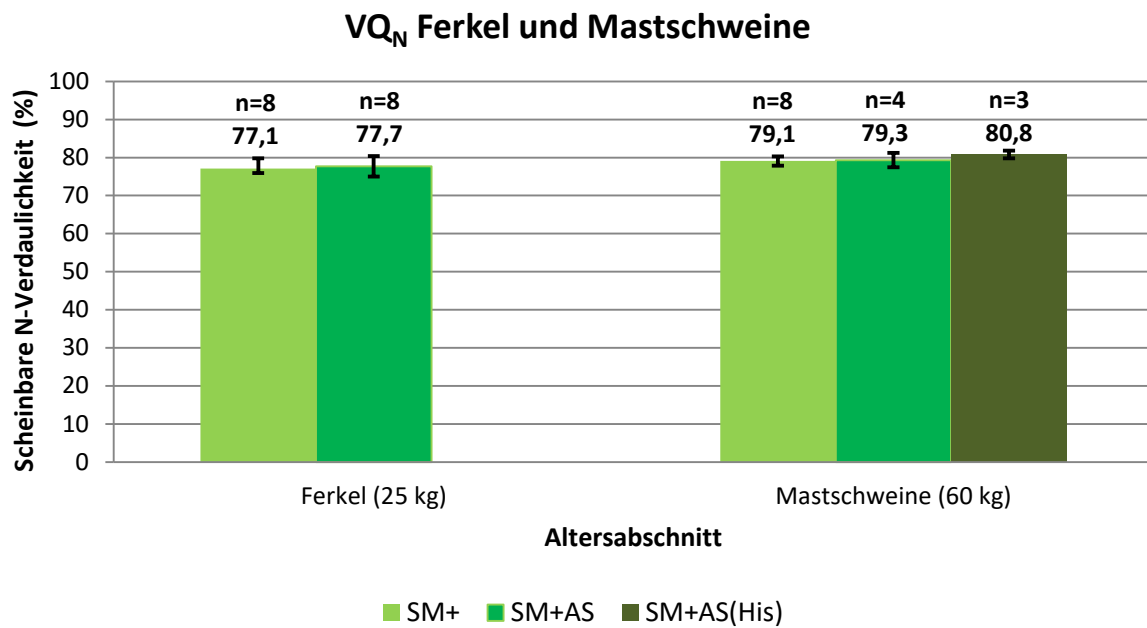


Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; NPU_{std} = standardisierter physiologischer Proteinnutzwert, N-Aufnahme= 3500 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Ferkel) und 3800 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Mastschwein), NMR= 433 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Ferkel) und 388 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Mastschwein), NR_{max}T= 4697 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Ferkel) und 3104 mg/LM_{kg}^{0,67}/d (Mastschwein); K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM+AS_{His}= SM mit erweiterter AS-Supplementierung und zusätzlich His; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

Die Proteinqualität in den Ferkel-SM-Mischungen bewegte sich trotz erweiterter AS-Supplementierung in Mischung SM+AS auf vergleichbarem Niveau. Die Mischung SM+AS zeigte numerisch eine um etwa 10 % höhere Proteinqualität im Vergleich zur Mischung SM+. Die Proteinqualität der Mastschweinmischungen stieg mit erweiterter AS-Supplementierung tendenziell an. Die Mischung SM+AS zeigte eine numerische Erhöhung im Vergleich zur Mischung SM+. Die Mischung SM+AS_{His} wies mit 71,8 % die signifikant höchste Proteinqualität auf, was die limitierende Rolle von His unterstreichen konnte.

In Abbildung 22 wird die scheinbare N-Verdaulichkeit der Futtermischungen bei Ferkeln und Mastschweinen veranschaulicht. Die scheinbare N-Verdaulichkeit beider SM-Mischungen beim Ferkel zeigte keine signifikanten Unterschiede. Im Versuch an Mastschweinen wiesen alle drei SM-Mischungen eine ähnliche scheinbare N-Verdaulichkeit auf (79,1 - 80,8 %) und unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Beobachtet wurde ein minimaler tendenzieller Anstieg der scheinbaren N-Verdaulichkeit durch die Erweiterung der AS-Supplementation.

Abbildung 22: Scheinbare N-Verdaulichkeit (Versuch 1, Ferkel und Mastschweine)



Mittelwert \pm SD; n= Stichprobenumfang; K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM+AS_{His}= SM mit erweiterter AS-Supplementierung und zusätzlich His; verschiedene Hochbuchstaben kennzeichnen die signifikanten Unterschiede innerhalb des jeweiligen Versuches ($p < 0,05$).

6 Diskussion

Die Auswirkungen eines teilweisen oder kompletten Austausches des SES durch SM in der Masthähnchenernährung sowie Ferkel- und Mastschweineernährung werden in folgendem Abschnitt diskutiert. Dabei werden die in Paper I, II und III erörterten Ergebnisse weiter differenziert betrachtet.

6.1 Wachstumsversuche Broiler

Bei den Masthähnchen wird auf die Veränderungen der durch den teilweisen oder kompletten Austausch von SES durch SM bei den zootechnischen Parametern, den Energie- und Proteinaufwand, den Ganzkörperzusammensetzungen, der spcV (XP und AS) und der Proteinqualität (NPU_{std}) der Futtermischungen eingegangen (Paper II).

Zootechnische Parameter

Von besonderer Bedeutung sind die zootechnischen Parameter LM, LMZ, FI und FA. Die vorliegenden Versuche haben gezeigt, dass die Mastleistungen durch die tägliche FI beeinflusst wurden. Bei *ad libitum* Fütterung ist die FI Ausdruck der maximalen Futteraufnahmekapazität. Diese ist im Hinblick auf die Ausschöpfung des Wachstumspotenzials der genetischen Herkunft von großer Bedeutung. Nach den Sollwerten von Aviagen (2014b) erreichen männliche Broiler der Genetik ROSS 308 eine LM von 2179 g (nach 34 Masttagen) bzw. von 2283 g (nach 35 Masttagen). Die Ergebnisse von Versuch 1 (2174 g) bzw. Versuch 3 (2177 g) nach 34 Masttagen sowie von Versuch 2 (2368 g) nach 35 Masttagen zeigen auf, dass die vorliegenden Kontrollmischungen als Referenz geeignet waren. In den Wachstumsversuchen wurde die Einsatzmenge an SM kontinuierlich erhöht. Die Startermischungen beinhalteten 11,8 % SM (Versuch 1), 22,1 % SM (Versuch 2) und 23,0 % SM (Versuch 3), während die Growermischungen 7,9 % SM (Versuch 1), 12,5 % SM (Versuch 2) und 20,0 % SM (Versuch 3) beinhalteten (Tabellenanhang 1, 2 und 3).

Basierend auf den zootechnischen Daten, die in den drei Wachstumsexperimenten ermittelt wurden, zeigte sich, dass eine erweiterte AS-Supplementierung gemäß dem IAAR (Wecke und Liebert, 2013) für die SM-Mischungen SM+AS zu überlegenen LMZ und vermindertem FA im Vergleich zu den SM-Mischungen SM+ und SM-LAS führten. Die essenziellen AS, die nicht vom Organismus synthetisiert werden können, müssen über die Nahrung dem Tier zugeführt werden. Dabei ist es wichtig, auf das IAAR zu achten. Bei dem IAAR handelt es sich um ein Futterprotein, bei dem das Verhältnis der einzelnen AS im Vergleich zu Lys

(Baker, 1997; Baker et al., 2002) genau den Anforderungen an das Aminosäurenbedarfsmuster im tierischen Organismus entspricht, d.h. keine der essenziellen AS wirkt limitierend oder ist im Überschuss vorhanden (Wecke und Liebert, 2013; Wecke et al., 2016).

Das Wachstum eines Organismus setzt eine Proteinsynthese voraus. Nach dem Liebig'schen Minimumgesetz begrenzt eine fehlende oder unzureichend vorhandene essenzielle AS die Kapazität der Proteinsynthese. Diese AS wirkt erstlimitierend und entscheidet über die Verwertung des Nahrungsproteins für den Aufbau von Körperprotein. Das Basisniveau der AS-Supplementierung in Wachstumsversuch 1 der SM-Mischungen, das der Kontrollmischung entsprach, stellte sich als nicht ausreichend dar, um eine akzeptable FI und eine daraus resultierende Wachstumsleistung und Futterverwertung bei Broilern zu erzeugen. Die SM-Mischungen mit erweiterter AS-Supplementierung ergaben ähnliche Wachstumsdaten wie bei der Kontrollmischung, die sich in keinem der drei Wachstumsversuche signifikant voneinander unterschieden.

Die geringen Wachstumsleistungen nach Gabe der Mischungen SM+ und SM-LAS sind auf die Korrelation mit dem geringeren Futterverzehr zurückzuführen. Der geringe Futterverzehr legt nahe, dass die Futtermischungen von den Tieren nicht gut akzeptiert wurden. Gründe für die begrenzte FI könnten die intensiv grüne Farbe, der Fischgeruch oder die feinpulvrige Konsistenz des SM sein (Becker, 2007). Nach Verabreichung einer grüngefärbten Futtermischung ohne Einsatz von Spirulina beobachteten Evans et al. (2015) keine signifikanten Unterschiede in der LMZ sowie bei der FI zwischen der experimentellen Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe. Diese Feststellung spiegelt sich in den vorliegenden Wachstumsversuchen (1-3) für die Mischungen SM+AS wieder. Trotz der grünen Farbe der Futtermischung wiesen Broiler der Mischung SM+AS gleichwertige Wachstumsparameter im Vergleich zur Kontrolle auf. Die geringere Akzeptanz des Futters der Mischungen SM+ und SM-LAS könnte somit durch das unausgewogene AS-Muster erklärt werden. In den Tabellen 32 und 33 ist das Nichterreichen einer optimalen AS-Supplementierung bei Mischung SM+ in Versuch 1 deutlich aufgezeigt. Vor allem das Lys und die SAS wirkten limitierend. Es ist deutlich sichtbar, dass in den Wachstumsversuchen 1, 2 und 3 die Kontrollmischungen und die Mischung SM+AS bezüglich der AS dem IAAR entsprachen. Die jeweils kalkulatorisch ermittelte erstlimitierende AS der Mischungen SM-LAS in Versuch 2 und 3 wurde ebenfalls erfolgreich auf 80 % (Tabelle 32 und 33) ihrer Empfehlung herabgesetzt, was sich in den entsprechenden zootechnischen Ergebnissen negativ widerspiegelt. Die Unterversorgung mit

der entsprechenden AS und das daraus entstandene suboptimale AS-Verhältnis kann bei den Tieren zu einer geringeren Akzeptanz der Futtermischungen geführt haben.

Tabelle 32: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Startermischungen der Wachstumsexperimente 1-3

	Lys	Met+Cys	Thr	Arg	His	Ile	Leu	Val
Empfehlung Experiment 1	12,50 (100)	9,25 (100)	7,50 (100)	13,13 (100)	4,25 (100)	6,88 (100)	13,13 (100)	7,88 (100)
K	12,6 (101)	<u>8,4</u> (91)	7,8 (104)	14,3 (108)	5,4 (127)	8,8 (128)	16,1 (123)	9,3 (118)
SM+	<u>10,2</u> (82)	<u>8,1</u> (88)	7,8 (104)	<u>13,0</u> (99)	4,3 (101)	8,8 (128)	15,9 (121)	9,9 (126)
SM+AS	12,7 (102)	9,6 (104)	7,8 (104)	13,7 (104)	4,3 (101)	8,8 (128)	15,8 (120)	9,8 (124)
Empfehlung Experiment 2	13,50 (100)	9,99 (100)	8,10 (100)	14,18 (100)	4,59 (100)	7,43 (100)	14,18 (100)	8,51 (100)
K	13,5 (100)	10,0 (100)	8,1 (100)	14,2 (100)	5,4 (118)	8,8 (118)	16,1 (114)	9,3 (109)
SM+AS	13,5 (100)	10,0 (100)	8,8 (109)	14,2 (100)	4,6 (100)	9,9 (133)	17,5 (123)	11,4 (134)
SM-LAS	<u>10,8</u> (80)	10,0 (100)	8,8 (109)	14,2 (100)	4,6 (100)	9,9 (133)	17,6 (124)	11,5 (135)
Empfehlung Experiment 3	13,50 (100)	9,99 (100)	8,10 (100)	14,18 (100)	4,59 (100)	7,43 (100)	14,18 (100)	8,51 (100)
K	13,5 (100)	10,0 (100)	8,1 (100)	14,2 (100)	5,4 (118)	8,8 (118)	16,1 (114)	9,3 (109)
SM+AS	13,5 (100)	10,0 (100)	8,7 (107)	14,2 (100)	4,6 (100)	9,6 (130)	17,2 (121)	10,8 (127)
SM-LAS	<u>10,8</u> (80)	10,0 (100)	8,8 (109)	14,2 (100)	4,6 (100)	9,6 (130)	17,3 (122)	10,8 (127)

K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimittierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt.

Tabelle 33: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Growermischungen der Wachstumsexperimente 1-3

	Lys	Met+Cys	Thr	Arg	His	Ile	Leu	Val
Empfehlung Experiment 1	10,50 (100)	7,77 (100)	6,51 (100)	11,03 (100)	3,57 (100)	6,83 (100)	11,03 (100)	8,29 (100)
K	10,5 (100)	7,9 (103)	6,9 (106)	12,4 (112)	4,8 (134)	7,8 (114)	14,5 (131)	8,3 (100)
SM+	8,6 (82)	7,6 (98)	6,9 (106)	11,4 (103)	3,9 (109)	7,7 (113)	14,3 (130)	8,7 (105)
SM+AS	10,7 (102)	8,1 (104)	6,9 (106)	11,5 (104)	3,9 (109)	7,7 (113)	14,2 (129)	8,9 (108)
Empfehlung Experiment 2	11,50 (100)	8,51 (100)	7,13 (100)	12,08 (100)	3,91 (100)	7,48 (100)	12,08 (100)	9,09 (100)
K	11,5 (100)	8,5 (100)	7,1 (100)	12,6 (104)	4,9 (125)	7,9 (106)	14,6 (121)	9,1 (100)
SM+AS	11,5 (100)	8,5 (100)	7,6 (107)	12,5 (103)	4,1 (105)	8,5 (114)	15,4 (127)	9,6 (106)
SM-LAS	11,5 (100)	6,8 (80)	7,6 (107)	12,5 (103)	4,1 (105)	8,5 (114)	15,4 (127)	9,6 (106)
Empfehlung Experiment 3	11,50 (100)	8,51 (100)	7,13 (100)	12,08 (100)	3,91 (100)	7,48 (100)	12,08 (100)	9,09 (100)
K	11,5 (100)	8,5 (100)	7,1 (100)	12,6 (104)	4,9 (125)	7,9 (106)	14,6 (121)	9,1 (100)
SM+AS	11,5 (100)	8,5 (100)	7,9 (111)	12,8 (106)	3,9 (100)	8,7 (116)	15,8 (131)	9,8 (108)
SM-LAS	9,2 (80)	8,5 (100)	7,9 (111)	12,9 (107)	3,9 (100)	8,7 (116)	15,8 (131)	9,8 (108)

K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= SM mit kalkulatorisch erstlimitierender AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt.

Bei einer Einsatzhöhe von 20 % SM (*Spirulina platensis*) in der Futtermischung für White Leghorn-Hähnchen stellten Ross und Dominy (1990) eine signifikant verschlechterte LMZ im Vergleich zur Kontrolle fest. Dies deckt sich mit den in dieser Arbeit genannten Beobachtungen für die Mischungen SM+, aber nicht für die SM+AS-Mischung. Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten auf Differenzen in der Nährstoffzusammensetzung des verwendeten SM zurückzuführen sein. Die Rohnährstoffe der SM unterschieden sich nur im Gehalt an XL, der bei Ross und Dominy (1990) deutlich geringer war. Beim Vergleich der AS-Zusammensetzung traten größere Unterschiede auf. Das in den vorliegenden Versuchen verwendete SM wies höhere Gehalte an AS, vor allem an essentiellen AS, auf, als das von Ross und Dominy (1990) verwendete SM. Zudem wurden bei Ross und Dominy (1990) lediglich Met und Lys in der Mischung ergänzt. Es liegt die Vermutung nahe, dass ggf. auch andere AS limitierend wirkten. Diese Unterschiede in den Ergebnissen könnten auch durch die unterschiedliche Herkunft, Art der Kultivierung und der Trocknung der Spirulina-Algen

begründet sein. Durch die Trocknungsprozesse bei 100°C über 4 Stunden wird die Qualität der Algenbiomasse möglicherweise beeinträchtigt und kann zu einer verminderten biologischen Verfügbarkeit von Lys als Folge der Maillard-Reaktion zwischen Kohlenhydraten und Lys (Adrian, 1975) führen. Reduzierende Zucker reagieren dabei mit den freien Aminogruppen der AS, wodurch Nährwertminderungen und toxische Verbindungen entstehen können (Ledl und Schleicher, 1990). Zudem können bei längerer Lagerung freie AS mit Abbauprodukten oxidierter Fettsäuren kondensieren (Belitz und Grosch, 1987).

Evans et al. (2015) beobachteten bei Einsatzhöhen von 6 und 16 % SM in Broilermischungen keine signifikanten Auswirkungen auf die LM (21. LT). Bei 21 % SM in den Mischungen war die LM signifikant niedriger. Ein solcher Effekt wurde in den vorliegenden Studien bei höheren Einsatzmengen nicht beobachtet. In Wachstumsversuch 3 ergaben Anteile an SM von 23,0 % (Starter) und 20,0 % (Grower) in den Mischungen keine Depression der End-LM, wenn die AS-Supplementierung dem IAAR (Wecke und Liebert, 2013) entsprach. Die Futtermischungen von Evans et al. (2015) basierten auf Mais, SES und Weizengrieskleie. Sie waren damit bezüglich der Bestandteile ähnlich zusammengesetzt wie die Futtermischungen dieser Arbeit. Es wurden L-Lys, DL-Met und L-Thr ergänzt. DL-Met und L-Thr wurden dabei mit steigender SM-Konzentration minimiert, L-Lys hingegen wurde gesteigert. Es ist naheliegend, dass weitere AS limitierend gewirkt haben könnten. Die Autoren spekulieren zudem, dass SM ein Pelletbinder sein könnte, da das feinpulvrige SM die Zwischenräume in den Pellets ausfüllt. Da der hohe XP-Gehalt die Proteingelierung beeinflusst, wird die Produktionsrate bei der Pelletierung verlangsamt, die Pelletiertemperatur steigt an und die Haltbarkeit der Pellets wird erhöht. Die Autoren begründen die mit 21 % SM beobachteten geringeren LMZ mit erhöhter Stabilität der Pellets. Die Proteingelierung während des Pelletierens kann die Viskosität des Chymus erhöhen, wodurch der Zugang der endogenen Enzyme zum Substrat im Magendarmtrakt verhindert und die Leistungsdaten geschmälert werden (Evans et al., 2015). Neumann et al. (2017) stellten beim Einsatz von SM eine Verdickung der *Tunica muscularis* fest. Dies könnte bedeuten, dass die Chymusviskosität im Darm durch das Vorhandensein von mehreren Polysacchariden in *Spirulina platensis* erhöht wird (Filali Mouhim et al., 1993). Dadurch findet eine stärkere Kontraktion des Darms statt, wodurch die *Tunica muscularis* verstärkt wird.

Venkataraman et al. (1994) eruierten, dass der isonitrogene Austausch (SM-Anteile im Laufe der Mast von 17 % (Starter) auf 12,8 % (Finisher) bzw. 14 % (Starter) auf 12 % (Finisher) reduziert) ohne Leistungseinbußen möglich war. Diese Erkenntnisse decken sich mit den

Mischungen SM+AS der vorliegenden Arbeit. Ein Einsatz von 17 % SM führte sogar zu einer signifikant höheren LMZ im Vergleich zur Kontrollgruppe. Das SM war vergleichbar mit dem SM1 der vorliegenden Arbeit. Es wurde in Open Ponds kultiviert und sonnengetrocknet. Der XL-Gehalt war mit 3,0 % (in TS) etwas niedriger als in den vorliegenden Studien. Kristalline AS wurden bei Venkataraman et al. (1994) nicht eingesetzt.

Wie bereits erwähnt, könnte in direkter Übereinstimmung mit der Wachstumsleistung die FI ein wichtiger Faktor sein (Evans et al., 2015). Aber nur in Versuch 3 mit einem Einsatzniveau von 23,0 % (Starter) und 20,0 % (Grower) SM in den Futtermischungen nahm die FI ($p < 0,001$) im Vergleich zur Kontrollmischung ab. Dieser Effekt war in den Versuchen 1 und 2 schwach und nur numerisch ausgeprägt. Bezüglich des FA wurde in den Versuchen 1-3 kein signifikanter Effekt zwischen der Kontrolle und den SM+AS-Mischungen gefunden. Venkataraman et al. (1994) konnten keine Abnahme des FA mit SM bei 14 % und 17 % Einsatzraten beobachten. Es ist jedoch anzumerken, dass eine erweiterte AS-Ergänzung zum Ausgleich der beobachteten AS-Defizite gemäß dem aktuellen IAAR (Wecke und Liebert, 2013) eine wesentliche Voraussetzung ist.

Bei Toyomizu et al. (2001) kam es zu keinen signifikanten Unterschieden der LM von männlichen Broilern (Arbor Acres) mit 0 %, 4 % und 8 % SM in den Mischungen. Die Tendenz war aber vorhanden, dass die LM mit steigender Einsatzmenge von *Spirulina platensis* sank. Diese Tendenz lässt sich auch bei den Mischungen SM+AS der drei Wachstumsversuche mit steigender SES-Austauschrate erkennen.

Saxena et al. (1983) ersetzten Erdnusskuchen teilweise durch SM von *Spirulina platensis* (Algenanteil 5,6 – 16,6 %) in Futtermischungen von White Leghorn-Hähnchen. Bei einer Einsatzhöhe von 11,1 % und 16,6 % SM im Vergleich zur Kontrolle wurden die LM signifikant gesteigert. Tendenziell stieg der Futterverzehr mit steigender Einsatzhöhe von SM, zugleich verbesserte sich der FA numerisch. Diese Erkenntnisse ließen sich in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigen. Die LM und der Futterverzehr nach Verabreichung der Mischungen SM+AS aller drei Wachstumsversuche waren jeweils in der Tendenz geringer im Vergleich zur Kontrollmischung. Der FA war in Versuch 2 und 3 der SM+AS-Mischungen ansatzweise wie bei Saxena et al. (1983) verbessert.

Zu gegensätzlichen Ergebnissen kamen Gongnet et al. (2001). SES wurde teilweise durch SM (*Spirulina platensis*) in Futtermischungen mit einem Anteil von 0 %, 5 %, 10 % oder 15 % ersetzt. Die FI reduzierte sich mit steigender Konzentration des SM im Futter, ab 15 % sogar

signifikant zur Kontrollgruppe. Auch die täglichen Zunahmen sanken mit steigendem Anteil an SM, ab 10 % signifikant. Der XP-Gehalt des SM lag bei 42,3 % und war hiermit deutlich unter dem der für die vorliegenden Studien verwendeten SM (SM1 und SM2). Die AS-Zusammensetzung hingegen war ähnlich zu SM1 und SM2. Gongnet et al. (2001) begründen den Rückgang der FI durch den Mangel an Lys.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine deutliche Wachstumsdepression bei der Mischung SM+ auf Basis einer AS-Supplementierung in Versuch 1 und den Mischungen SM-LAS in den Versuchen 2 und 3 beobachtet. Austic et al. (2013) kamen bei der Verwendung der Mikroalge *Staurorsira sp.* zu sehr ähnlichen Schlussfolgerungen. Eine niedrigere Wachstumsrate (0 - 3 Wochen alte Broiler) und eine geringere Futtereffizienz (0 - 6 Wochen alte Broiler) wurden beobachtet, wenn SES teilweise (7,5 %) durch Algenmehl auf einer grundlegenden Ebene der AS-Ergänzung substituiert wurde. Die Studie von Austic et al. (2013) zeigte, dass die Broiler angemessene, mit der Kontrolle vergleichbare zootechnische Parameter erreichten, wenn die gleichen Mischungen mit einem erweiterten Niveau von essenziellen AS (Met, Lys, Arg, Ile, Thr, Trp, Val) ergänzt wurden.

Die unterschiedliche Herkunft der beiden Spirulina-Chargen (SM1 und SM2) hatte in den vorliegenden Versuchen keine Auswirkungen auf die Wachstumsparameter.

Protein- und Energieaufwand

In der aktuellen Studie konnte bezüglich des Protein- und Energieaufwandes kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und den Mischungen mit erweiterter AS-Supplementierung in allen drei Versuchen festgestellt werden. Vergleichbare Ergebnisse zum Protein- und Energieaufwand von Broilermischungen bezüglich des Einsatzes von SM als alternative Proteinquelle sind in der Literatur nicht vorhanden.

Bezüglich des Proteinaufwandes unterschieden sich die Kontrollmischung und die Mischungen SM+AS in allen drei Wachstumsversuchen nicht signifikant voneinander. Die Mischung SM+AS zeigte in den Versuchen 1 und 2 im Vergleich zu den Mischungen der Kontrolle einen tendenziell besseren Proteinaufwand, möglicherweise infolge eines geringeren Futtermittelsverzehrs. In Versuch 3 kann der geringfügig höhere Proteinaufwand nach Gabe der Mischung SM+AS durch die andere SM-Charge (SM2) und den etwas erhöhten XP-Gehalt in der Mischung SM+AS erklärt werden. Der Proteinaufwand nach Verfütterung der Mischung SM+ mit einer AS-Supplementierung auf Basis der Kontrollmischung (Versuch 1) und die Mischungen SM-LAS (Versuch 2 und 3) zeigten eine signifikante Verschlechterung

des Proteinaufwandes. Diese Verschlechterung spiegelt die Ergebnisse der LMZ, FI und FA wieder und ist durch die Verschlechterung der Proteinqualität, Minderwachstum und verringerten Futtermittelverzehr zu begründen.

Der Energieaufwand über die gesamte Versuchsperiode aller drei Wachstumsversuche zeigte Parallelen zum Proteinaufwand. Die Kontrollmischung und die Mischungen SM+AS unterschieden sich in keinem der Versuche signifikant voneinander. Die Mischung SM+AS hatte einen tendenziell besseren Energieaufwand in den Versuchen 1 und 2 im Vergleich zu den Mischungen K. Dies kann damit erklärt werden, dass der Futtermittelverzehr und somit auch die Energieaufnahme tendenziell geringer waren als in den Mischungen K. Der Energieaufwand der Mischung SM+ mit einer AS-Supplementierung auf Basis der Kontrollmischung (Versuch 1) und die Mischungen SM-LAS mit jeweils der kalkulatorisch erstlimitierten AS (Versuch 2 und 3) zeigten jeweils eine signifikante Verschlechterung des Energieaufwandes. Der geringe Futtermittelverzehr bewirkte auch eine geringe Energieaufnahme. Zudem führten die geringeren LMZ zu einem höheren Energieaufwand der Tiere.

Ganzkörperzusammensetzung

Die chemische Zusammensetzung des Ganzkörpers steht im unmittelbaren Zusammenhang mit der Fütterung, da im ernährungsphysiologischen Bereich überwiegend die Intensität der Körpersynthese ernährungsabhängig scheint (Günther und Mohme, 1977). Nach Maurus et al. (1988) wird die Körperzusammensetzung durch den Protein- und Energiegehalt des Futters beeinflusst. Mit steigender Proteinversorgung sind die Ganzkörper wasser- und proteinreicher, aber deutlich fettärmer. Im Gegenzug erhöht eine zunehmende Energieaufnahme den Fettgehalt im Körper bei gleichzeitig verringertem Wasser- und Proteingehalt.

Bezüglich der Ganzkörperzusammensetzung am Versuchsende wurde in jedem der Wachstumsversuche 1, 2 und 3 der höchste XP-Gehalt des Körpers (57 bis 60 % in der TS) bei Broilern beobachtet, die mit der Kontrollmischung gefüttert wurden. Dementsprechend war der Ganzkörperfettgehalt bei den Broilern der Kontrolle am niedrigsten und lag zwischen 32 und 35 % der TS. Die Kontrollmischungen in beiden Altersperioden (Starter und Grower) lagen im Gehalt an AME_N am niedrigsten. Der höhere TS-Gehalt im Ganzkörper der SM-Broiler ist mit einem höheren Fettgehalt des Körpers zu erklären, der durch den höheren Energiegehalt in den SM-Mischungen resultiert. Die experimentellen Mischungen mit der alternativen Proteinquelle wiesen durchgängig einen höheren Energiegehalt in den Mischungen auf. Es war jedoch nicht das Ziel des Versuchsdesigns, diesen offensichtlichen Effekt auf die Energiekonzentration in den Mischungen durch Anpassung der Menge des

Sojaöls in den endgültigen Mischungen zu kompensieren. Folglich waren die beobachteten signifikanten Reaktionen auf die Ganzkörperzusammensetzung nicht überraschend. Interessant ist die weitere Diskussion der Nährstoffansatzdaten unter der Berücksichtigung, dass die unterschiedliche Körperzusammensetzung ein wichtiger Faktor ist, der durch die zootechnischen Parameter beeinflusst wird.

Ansatzparameter

Die Auswirkungen auf die Körperzusammensetzung am Versuchsende wurden ebenso untersucht. Der XP-Ansatz in wachsenden Tieren entspricht der Bilanz zwischen Proteinsynthese und Proteinabbau. Er ist stark von der Proteinzufuhr abhängig (Maurus et al., 1988). Der XL-Ansatz steht in direkter Beziehung mit der Energieaufnahme (Thomke et al., 1995; Westendarp, 1999).

Die Veränderungen in der Körperzusammensetzung reagieren direkt auf die abgeleiteten Nährstoffansatzdaten. Mit Ausnahme von Experiment 2 hatten Broiler, die mit der Mischung SM+AS gefüttert wurden, einen signifikant niedrigeren XP-Ansatz ($p < 0,001$) als Broiler der Kontrollgruppe. Tiere, die die Mischungen mit SM und einer Basis AS-Supplementierung (SM+) verabreicht bekamen, erreichten in Experiment 1 nur einen sehr geringen täglichen XP-Ansatz (50 % unter der Kontrolle). Dies deutet darauf hin, dass die AS-Versorgung nicht ausreichend war, was sich bereits bei den zootechnischen Ergebnissen zeigte. Die Zusammenstellung der Futtermischungen kann jedoch nicht als einziger Einflussfaktor für das Niveau des täglichen XP-Ansatzes identifiziert werden. Das leicht energetische Überangebot bei den SM-Mischungen begrenzte die Proteinverwertung definitiv nicht.

Broiler der Fütterungsgruppe SM+ erreichten den niedrigsten Körper-XP-Gehalt, der signifikant unter dem der Broiler der Kontrolle lag. Auch in Versuch 2 und 3 erreichten Broiler der Mischungen SM-LAS einen tendenziell geringeren XP-Ansatz im Vergleich zu den Tieren der Mischungen SM+AS. Der geringere XP-Ansatz bei den Broilern der Mischung SM-LAS war signifikant geringer im Vergleich zur Kontrolle. Dementsprechend war der angesetzte Körper-XL-Gehalt bei den Broilern der Kontrolle am niedrigsten. Eine Erklärung für diese Beobachtung ist der niedrigere Gehalt an AME_N , der in den Kontrollmischungen sowohl für die Starter- als auch für die Growerperiode berechnet wurde. Es war in Versuch 1 nicht beabsichtigt, wie bereits erwähnt, diesen energetischen Effekt zu kompensieren, indem der Gehalt an Sojaöl in den Versuchsmischungen verringert wurde. Auf diese Weise sollte gezeigt werden, welche diätetischen Effekte erwartet werden können, wenn SES durch SM bei hohen Einsatzmengen ausgetauscht wird. Es gab signifikante Effekte zwischen den

Mischungen bezüglich des GE-Ansatzes. In Versuch 1 zeigten die Broiler der Mischung SM+AS den signifikant höchsten GE-Ansatz. In Versuch 2 und 3 war der erhöhte GE-Ansatz der SM+AS-Broiler nur tendenziell im Vergleich zur Kontrolle. Jeweils die signifikant geringsten GE-Ansätze wiesen Broiler der Mischungen SM+ (Versuch 1) und SM-LAS (Versuch 2 und 3) auf. Die Ergebnisse deuteten zusätzlich darauf hin, dass die komfortable Energieversorgung des Futters kein limitierender Faktor für die Proteinverwertung war, wenn die AS-Versorgung erweitert wurde. Die höheren GE-Ansätze in den Mischungen SM+AS können durch die entsprechenden höheren XL-Ansätze erklärt werden. Ein signifikant niedrigerer XP-Ansatz wurde bei Broiler gefunden, die die Mischung SM+ verabreicht bekamen. Wie erwartet wurden die niedrigsten Ansätze von XP, XL und XA bei Broilern, die die Mischung SM+ enthielten, beobachtet. Eine AS-Supplementierung der SM-Mischungen in Anlehnung an die Kontrollmischung führte bei den Tieren zu signifikant schlechteren Nährstoffansatzdaten. Diese Beobachtung unterstreicht die Notwendigkeit für ein erweitertes Niveau der AS-Supplementierung mit zunehmender Substitution von SES. Austic et al. (2013) kamen zur gleichen Erkenntnis, dass eine optimierte AS-Supplementierung in Mischungen mit Mikroalgen für die Aufzucht von Broilern notwendig ist.

Energieverwertung

Hoffmann et al. (1982) beschreiben den Zusammenhang zwischen einem unterschiedlichen Energieaufwand und dem Protein- bzw. Fettansatz. Der Proteinansatz erfordert einen höheren Energieaufwand als der Fettansatz. Daraus folgt, je höher der Fettansatz im Schlachtkörper ist, desto höher ist auch die Energieverwertung. Dies stimmt mit den vorliegenden Ergebnissen für die Kontrollmischungen und SM+AS-Mischungen überein.

In den Mischungen mit SM war aufgrund des niedrigeren SES-Gehaltes im Vergleich zur Kontrollmischung weniger Rohfaser in den Futtermischungen enthalten. Rohfaser kann von Broilern nur schlecht verdaut werden. Im Gegensatz dazu lassen sich die NfE bei Geflügel mit durchschnittlich 93 % von allen anderen Rohnährstoffen am besten verdauen. Die Mischungen, die mehr NfE enthalten, könnten dadurch zur besseren Umsetzbarkeit der Futterenergie führen (Qiyu, 1998).

Proteinqualität (NPU_{std})

Die Qualität eines Proteins wird grundsätzlich über die AS-Zusammensetzung, den Gehalt und die Nutzbarkeit der essentiellen AS bestimmt (Becker und Venkataraman, 1984; Stangl, 2014a). Einflussgrößen auf die Proteinverwertung können u.a. die Proteinqualität sowie die Höhe des Proteinangebotes (Voreck und Kirchgeßner, 1980), der Zusatz an AS (Gruber und

Menke, 1984) und die Energieversorgung sein (Voreck und Kirchgeßner, 1980; Neumann und Kirchgeßner, 1984).

In Bezug auf die Proteinqualität zeigte die standardisierte Nettoproteinverwertung (NPU_{std}) in den vorliegenden Experimenten, dass die Kontrollmischungen in den drei Wachstumsversuchen sehr ähnliche Ergebnisse erzielten ($p > 0,05$). Damit stellten sich die Kontrollmischungen als optimale Referenzmischungen dar. Wie bereits berichtet, ist der Proteinqualitätsparameter NPU_{std} ein Maß für die Proteinqualität, unabhängig von der individuellen Variation der N-Aufnahme. Mischungen mit SM, die mit einem erweiterten Niveau an AS supplementiert wurden, führten zu einer überlegenen Proteinqualität in den vorliegenden Wachstumsversuchen. Diese Beobachtung lieferten auch die Ergebnisse aus den N-Bilanz-Studien bei wachsenden Broilern. Eine signifikante Verbesserung der Proteinqualität der Futtermischungen SM+AS im Vergleich zu den Mischungen SM+ und SM-LAS durch die erweiterte Supplementation mit AS spiegeln sich in den Erkenntnissen von Becker und Venkataraman (1984) wieder. Es konnte die Proteinqualität, gemessen am NPU von *Spirulina platensis*, durch die Ergänzung einer halbsynthetischen Mischung mit Met verbessert werden. Im Gegensatz dazu konnten Brede et al. (2016) bei einem Fütterungsversuch mit Ratten (N-Bilanzmessungen) keine Verbesserung der Proteinqualität (NPU_{std}) bei halbsynthetischen Mischungen mit 19 % SM (*Spirulina platensis*) durch eine zusätzliche Supplementation von Met oder einer Kombination von Met und Lys feststellen. Grundsätzlich ist eine erweiterte AS-Supplementierung in Broilerfutter erforderlich, wenn hohe Anteile des SES durch SM ausgetauscht werden. Aus den Ergebnissen des NPU_{std} geht auch hervor, dass Verbesserungen beim Ausgleich der AS-Versorgung bei SM-Mischungen weitere Aufmerksamkeit erfordern, da die beobachtete Proteinqualität im Allgemeinen niedriger war als bei den Kontrollmischungen.

Die Experimente 2 und 3 sollten zusätzlich erste Informationen über die individuelle AS-Wirksamkeit in Mischungen mit einer hohen Substitutionsrate von SES durch SM bereitstellen. Aus diesem Grund wurde das Angebot der potenziell limitierenden Aminosäure (LAS) gezielt reduziert, um die Proteindeposition unter den Bedingungen ihrer validierten Limitanz zu messen. Nach Absenkung der kalkulatorisch ermittelten AS (Mischungen SM-LAS) reagierten die zootechnischen Parameter mit signifikant geringeren Leistungsdaten, und auch die Proteinqualität der Mischungen verschlechterte sich signifikant. Die Reduzierung der Lys-Zufuhr in SM-Mischungen auf 80 % der Empfehlung ergab deutliche Reaktionen, was auch auf die Wichtigkeit hinweist, diese AS in SM-basierten Mischungen auszugleichen. In

der Konsequenz kann die AS-Wirksamkeit der einzelnen LAS direkt abgeleitet und für weitere Anwendungen des Göttinger N-Verwertungsmodells verwendet werden. Zugleich sind weitere Untersuchungen notwendig, um das volle Potenzial von AS-Supplementierungen auszuschöpfen und somit eine optimale AS-Balance bei Mischungen mit einem hohen SES-Substitutionsgrad durch die untersuchte Proteinquelle zu erreichen. Darüber hinaus sollte – basierend auf den beobachteten Werten der AS-Effizienz – der Fokus gezielt auf die Verbesserung der AS-Wirksamkeit bei Mischungen mit SM gelegt werden.

Die abgeleiteten Proteinqualitäten (NPU_{std}) unterstreichen klar, dass die experimentellen Mischungen mit SM als SES-Ersatz bei AS-Supplementierung auf Basis der Kontrollmischung eine unzureichende Futterproteinqualität erreichten. Unter diesem Gesichtspunkt ist zu folgern, dass eine erweiterte Supplementation an kristallinen AS eine Voraussetzung für hohe Einsatzmengen der untersuchten alternativen Proteinquelle ist. Weitere Untersuchungen sind bezüglich des Ausmaßes der AS-Supplementierung nach dem IAAR (Wecke und Liebert, 2013) in Mischungen, die SM beinhalten, erforderlich, um eine erhöhte und effizientere Proteinverwertung bei Masthähnchen auf Mikroalgenbasis zu erreichen.

Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäureverdaulichkeit Broiler

Die Verdaulichkeit kann durch das Tier selbst, durch Futtermittel, durch die Futtermittelbearbeitung sowie durch Futterzusatzstoffe beeinflusst werden (Kamphues et al., 2009). Bei Geflügel findet die Verdauung im oberen Teil des Dünndarms einschließlich des Zwölffingerdarms (Duodenum) statt. Die freigesetzten Nährstoffe werden hauptsächlich im unteren Teil des Dünndarms absorbiert. Nach Tasaki und Takahashi (1996) tritt der Großteil der Nährstoffabsorption im Jejunum und Ileum auf. Bezüglich der Futterbewertung herrscht die Meinung vor, dass die Messung des Aminosäurenflusses am terminalen Ileum ein zuverlässigeres Maß für die Verdaulichkeitsbestimmung der AS bei Hühnern ist als die Messung der Gesamt-AS-Ausscheidung (Ravindran et al., 1999; Rodehutsord et al., 2004).

Die beobachtete relativ geringe spcV des XP von SM-Mischungen im Vergleich zur Kontrollmischung könnte auf eine geringere Proteinverdaulichkeit von Algenmehl zurückgeführt werden. Mikroalgen enthalten keine Zellulose in der Zellwand, sondern eine dünne, instabile Hülle aus Murein (Peptidoglykane), die während der Verdauung keine Barriere für proteolytische Enzyme darstellt (Grewe und Pulz, 2012). Die Proteinverdaulichkeit *in-vitro* lag zwischen 70 und 85 % (Devi et al., 1981), wenn eine Pepsin- und anschließende Pankreatin-Inkubation angewandt wurde. Frische Spirulina-Algen

sind im Vergleich zu sonnengetrocknetem oder gefriergetrocknetem SM höher verdaulich (Devi et al., 1981). Bis heute gibt es keine relevante Studie, die sich mit der Verdauung von Algenbiomasse in Broilermischungen beschäftigt. Kohlenhydrate und Ballaststoffe in den Spirulina-Algen können die Verdaulichkeit beeinträchtigen und gastrointestinale Störungen, Flatulenz oder Flüssigkeitsretention verursachen (Becker, 2004). Es wäre wichtig zu wissen, ob die Zellwände der Mikroalgen von *Spirulina platensis* selbst verdaulich oder nur zerbrechlich genug sind, um den Zellinhalt für Verdauungsenzyme leicht zugänglich zu machen.

Die berichteten Ergebnisse zur spcV von XP und den AS sind nach einer sehr begrenzten Anzahl von Wiederholungen, einhergehend mit hohen Standardabweichungen, vorläufig. Die Mischung SM+ in Versuch 1 ergab die niedrigste scheinbare pcV sowohl von XP als auch von ausgewählten AS außer Met. In Versuch 2 erzielte die Mischung SM-LAS im Gegensatz zur Mischung K ebenso eine signifikant schlechtere spcV des XP sowie Met, Met+Cys, Ile und Val. Nur eine numerisch geringere spcV von XP im Gegensatz zur Kontrollmischung zeigte die Mischung SM+AS in Versuch 3. Herauszustellen ist, dass es sich hierbei um eine andere Charge an SM (SM2) handelt als im Versuchskomplex 1 und 2, und um die SM-Mischung mit erweiterter AS-Supplementierung (SM+AS). Über alle drei Versuchskomplexe war die Verdaulichkeit von Ile und Val jeweils in den K-Mischungen signifikant höher als in den SM-Mischungen. Die spcV von XP war in allen drei Versuchen für die Kontrollmischungen mit SES relativ identisch (75,2; 76,8; 75,8 %). Die geringere Verdaulichkeit der Mischung SM+ und der Mischung SM-LAS unterstützt die Schlussfolgerung, dass insbesondere das Algenmehl von *Spirulina platensis* schlechter verdaulich ist als das SES. Diese Beobachtung erklärt auch zum Teil die Depression bei den Proteinqualitätsparametern und des XP-Ansatzes, die bei Spirulina-basierten Mischungen auf dem Niveau der Basis AS-supplementierten Mischung (SM+) und der Mischung mit der erstlimitierenden AS (SM-LAS) gefunden wurden. Zudem konnte auch eine erweiterte AS-Supplementierung (SM+AS) keine zur Kontrollmischung adäquate Proteinqualität und vergleichbaren XP-Ansatz erzielen, was ebenso auf Grund der geringeren Verdaulichkeit begründet werden könnte.

Abschließend ist für die Bewertung der in der vorliegenden Studie bestimmten scheinbaren praecaecalen AS-Verdaulichkeit (Versuch 1 und 2) herauszustellen, dass es sich bei den SM-Mischungen (SM+ und SM-LAS) um Mischungen mit nicht ausreichender AS-Versorgung handelte. Es ist jedoch zu beachten, dass bei steigender bzw. höherer Konzentration einer

kristallinen AS auch die Verdaulichkeit dieser AS ansteigt, da zugesetzte kristalline AS als 100 % verdaubar gelten.

6.2 N-Bilanzmessungen Broiler

Bei den Masthähnchen, die für die Bilanzversuche 1 (Paper II) und 2 verwendet wurden, wird auf die Veränderungen der durch den kompletten Austausch von SES durch SM entstandenen Proteinqualitäten eingegangen. Im Bilanzversuch 1 wurden 21 bzw. 17 % SM (Starter/Grower) und in Bilanzversuch 2 wurden 24 bzw. 21 % SM (Starter/Grower) in den Mischungen eingesetzt.

Die vollständige Substitution von SES wurde durchgeführt, um das Potential, aber auch die Grenzen des zu untersuchenden SM aufzuzeigen. In diesem Zusammenhang sollten die Auswirkungen extrem hoher SM-Inklusionsraten auf die Parameter der Proteinqualität in der Ernährung von Broilern mittels N-Bilanzmessungen quantifiziert werden. Dabei wurde eine signifikante Verschlechterung der Futterproteinqualität bei der Fütterung der alternativen Proteinquelle mit einem AS-Supplementierungsniveau, das dem der SES-Kontrollmischung entsprach, beobachtet. Diese Beobachtungen stimmen mit Austic et al. (2013) überein. Die Autoren zeigten, dass wachsende Hühner (0 - 3 Wochen alt) langsamer wuchsen und eine geringere Futtereffizienz aufwiesen (0 - 6 Wochen alt), wenn SES teilweise durch 7,5 % *Staurosira sp.* auf einer grundlegenden Ebene der AS-Ergänzung substituiert wurden. Mischungen mit 7,5 % des Algenmehls, ergänzt mit einem erhöhten Gehalt an essentiellen AS (Met, Lys, Arg, Ile, Thr, Trp, Val), ergaben jedoch Leistungsdaten, die der Kontrollmischung entsprachen. Andere Studien (Brune, 1982; Bellof und Carrasco Alarcón, 2013) zeigten, dass mit SM gefütterte Broiler ihre FI in der Starterperiode reduzierten, in der Growerperiode in geringerem Maße (Bellof und Carrasco Alarcón, 2013). Dieser Trend wird durch die aktuelle Bewertung der Proteinqualität gestützt, die darauf hinweist, dass ein altersbezogenes Szenario möglich ist. Das spiegelte sich für die SM+AS-Mischung im Versuch 1 und 2 im Vergleich zur Mischung K wieder.

Tabelle 34: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen des N-Bilanzversuches 1

	Lys	Met+Cys	Thr	Arg	His	Ile	Leu	Val
Empfehlung Starter	12,50 (100)	9,25 (100)	7,50 (100)	13,13 (100)	4,25 (100)	6,88 (100)	13,13 (100)	7,88 (100)
K	12,6 (101)	8,4 <u>(91)</u>	7,8 (104)	14,3 (108)	5,4 (127)	8,8 (128)	16,1 (123)	9,3 (118)
SM+	7,4 <u>(60)</u>	7,5 <u>(81)</u>	7,2 <u>(96)</u>	10,9 <u>(82)</u>	3,1 <u>(73)</u>	8,1 (118)	14,6 (111)	9,6 (122)
SM+AS	11,8 <u>(94)</u>	9,1 <u>(98)</u>	7,2 <u>(96)</u>	13,1 (100)	4,0 <u>(94)</u>	8,0 (116)	14,6 (111)	9,6 (122)
Empfehlung Grower	10,50 (100)	7,77 (100)	6,51 (100)	11,03 (100)	3,57 (100)	6,83 (100)	11,03 (100)	8,29 (100)
K	10,5 (100)	7,9 (103)	6,9 (106)	12,4 (112)	4,8 (134)	7,8 (114)	14,5 (131)	8,3 (100)
SM+	6,4 <u>(61)</u>	7,2 <u>(93)</u>	6,4 <u>(98)</u>	9,7 <u>(88)</u>	3,0 <u>(84)</u>	7,1 (104)	13,4 (121)	8,6 (104)
SM+AS	10,0 <u>(95)</u>	7,7 <u>(99)</u>	6,4 <u>(98)</u>	11,1 (101)	3,4 <u>(95)</u>	7,1 (104)	13,3 (121)	8,8 (106)

K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung.

In Tabelle 34 sind die deutlichen AS-Defizite der Mischung SM+, aber auch der Mischung SM+AS zu erkennen. Es gelang auch in der Mischung SM+AS nicht, alle AS zu 100 % an das IAAR anzugleichen. Dies ist ein Grund für die geringeren Proteinqualitäten dieser Mischungen im Vergleich zur Kontrollmischung.

Bei näherer Betrachtung des NPU_{std} als Proteinqualitätsparameter, der unabhängig von der Variation der N-Aufnahme ist, wurde eine signifikant niedrigere Proteinqualität während der Starterperiode für die SM+AS-Mischung im Vergleich zu der Kontrollmischung festgestellt (Bilanzversuch 1 und 2). Im Gegensatz dazu wurde während der Growerperiode eine Proteinqualität für die SM+AS-Mischung beobachtet, die sich nicht signifikant von der Kontrollmischung unterschied (Bilanzversuch 1 und 2). Diese widersprüchlichen Ergebnisse bedürfen weiterer Untersuchungen und stehen im Mittelpunkt laufender Auswertungen.

Tabelle 35: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen des N-Bilanzversuches 2

	Lys	Met+Cys	Thr	Arg	His	Ile	Leu	Val
Empfehlung Starter	13,50 (100)	9,99 (100)	8,10 (100)	14,18 (100)	4,59 (100)	7,43 (100)	14,18 (100)	8,51 (100)
K	13,5 (100)	10,0 (100)	8,1 (100)	14,2 (100)	5,4 (118)	8,8 (118)	16,1 (114)	9,3 (109)
SM+AS	13,5 (100)	10,0 (100)	<u>7,9</u> (98)	14,2 (100)	4,6 (100)	8,9 (120)	16,0 (113)	10,6 (125)
SM-Lys	<u>10,8</u> (80)	10,0 (100)	<u>7,9</u> (98)	14,2 (100)	4,6 (100)	8,9 (120)	16,0 (113)	10,6 (125)
SM-Met+Cys	13,5 (100)	<u>8,0</u> (80)	<u>7,9</u> (98)	14,2 (100)	4,6 (100)	8,9 (120)	16,0 (113)	10,6 (125)
SM-His	13,5 (100)	10,0 (100)	<u>7,9</u> (98)	14,2 (100)	<u>3,7</u> (81)	8,9 (120)	16,0 (113)	10,6 (125)
Empfehlung Grower	11,50 (100)	8,51 (100)	7,13 (100)	12,08 (100)	3,91 (100)	7,48 (100)	12,08 (100)	9,09 (100)
K	11,5 (100)	8,5 (100)	7,1 (100)	12,6 (104)	4,9 (125)	7,9 (106)	14,6 (121)	9,1 (100)
SM+AS	11,5 (100)	8,5 (100)	7,3 (102)	12,1 (100)	4,0 (102)	8,1 (108)	14,8 (123)	9,7 (107)
SM-Lys	<u>9,2</u> (80)	8,5 (100)	7,3 (102)	12,1 (100)	3,9 (100)	8,1 (108)	14,9 (123)	9,7 (107)
SM-Met+Cys	11,5 (100)	<u>6,8</u> (80)	7,3 (102)	12,1 (100)	3,9 (100)	8,1 (108)	14,9 (123)	9,7 (107)
SM-His	11,5 (100)	8,5 (100)	7,3 (102)	12,1 (100)	<u>3,2</u> (82)	8,1 (108)	14,8 (123)	9,7 (107)

K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-Lys= SM mit Lys auf 80 % der Empfehlung herabgesetzt; SM-Met+Cys= SM mit Met+Cys auf 80 % der Empfehlung herabgesetzt; SM-His= SM mit His auf 80 % der Empfehlung herabgesetzt.

In Tabelle 35 werden die erzielten AS-Gehalte des Bilanzversuches 2 dem IAAR gegenübergestellt. Die Absenkung der jeweils limitierenden AS auf 80 % ihrer Empfehlung führte deutlich erkennbar zu geringeren Proteinqualitäten der entsprechenden Futtermischungen. Durch das Herabsetzen der Angebote von Lys oder His in der Starterperiode sank die Proteinqualität signifikant zur Mischung SM+AS. Dies weist darauf hin, dass sowohl Lys als auch His als erstlimitierende AS wirken können. Keine signifikanten Unterschiede gab es durch das Herabsetzen der SAS. In der Growerperiode sank die Proteinqualität durch das Herabsetzen von Lys signifikant. Negative Auswirkungen eines individuellen AS-Überschusses auf N-Verwertungsparameter können jedoch nicht ausgeschlossen werden. Weitere Untersuchungen zur Optimierung der AS-Balance bei der Fütterung von Broilern mit einem erhöhten Einsatz SM und Futter-AS müssen weiterhin Priorität haben.

6.3 Wachstumsversuche Ferkel und Mastschweine

In diesem Abschnitt wird auf die Veränderungen der durch den teilweisen Austausch von SES durch SM entstandenen zootechnischen Parameter und den Energie- und Proteinaufwand bei den Ferkeln und Mastschweinen eingegangen.

Wachstumsversuche Ferkel

Im Ferkelwachstumsversuch 1 wurden rückblickend 8,49 % SM und im Wachstumsversuch 2 15,86 % SM in den Mischungen eingesetzt. Die LM der Versuchsgruppen unterschieden sich nicht signifikant während der gesamten Versuchsdauer des Wachstumsversuches 1 und 2. In Versuch 1 schnitten beide SM-Mischungen in den LMZ signifikant schlechter im Vergleich zur Mischung K ab.

Tabelle 36: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen der Ferkelwachstumsversuche 1 und 2

	Lys	Met+Cys	Thr	His	Ile	Leu	Val
Empfehlung Ferkelversuch 1	12,70 (100)	6,35 (100)	7,62 (100)	4,32 (100)	6,22 (100)	12,70 (100)	7,87 (100)
K	12,8 (101)	6,5 (102)	7,7 (101)	4,5 (104)	7,3 (117)	12,9 (102)	8,0 (102)
SM+	11,2 (<u>88</u>)	6,1 (<u>96</u>)	7,1 (<u>93</u>)	3,7 (<u>86</u>)	7,2 (116)	12,6 (<u>99</u>)	8,4 (107)
SM+AS	13,2 (104)	6,4 (101)	7,8 (102)	3,7 (<u>86</u>)	7,2 (116)	12,6 (<u>99</u>)	8,4 (107)
Empfehlung Ferkelversuch 2	12,70 (100)	6,35 (100)	7,62 (100)	4,32 (100)	6,22 (100)	12,70 (100)	7,87 (100)
K	12,7 (100)	6,6 (104)	7,6 (100)	4,5 (104)	7,3 (117)	13,0 (102)	8,1 (103)
SM+	10,8 (<u>85</u>)	6,5 (102)	7,6 (100)	3,4 (<u>79</u>)	7,9 (127)	13,6 (107)	9,4 (119)
SM+AS	13,3 (105)	6,6 (104)	7,9 (104)	4,5 (104)	7,9 (127)	13,6 (107)	9,4 (119)

K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung.

Die LMZ wird bekanntlich maßgeblich durch den Futtermittelverzehr beeinflusst. Dieser wies jedoch in allen experimentellen Mischungen in Versuch 1 und 2 keine signifikanten Unterschiede auf. Hieraus lässt sich ableiten, dass sowohl SM als auch SES gut von den Tieren akzeptiert wurden. Keine Unterschiede im Futtermittelverzehr beobachteten auch Grinstead et al. (2000) und Saeid et al. (2013) beim Einsatz von SM. Einige Studien haben gezeigt, dass SM eine gute Proteinquelle in Schweinemischungen sein kann (Février und Sève, 1976; Yap et al., 1982; Hugh et al., 1985; Grinstead et al., 2000). Grinstead et al. (2000) untersuchten gestufte Gehalte an SM (2 - 20 g/kg) in Futtermischungen für abgesetzte Ferkel. Schweine,

die 20 g Spirulina pro kg Futter erhielten, hatten eine signifikant höhere FI und höhere Tageszunahmen als die Kontrollgruppe. Schweinemischungen mit 12 % SM (Février und Sève, 1976), 9 % SM (Hugh et al., 1985) oder mindestens die Hälfte des Proteins aus SES, ersetzt durch Algenmehl (Yap et al., 1982), hatten keine Auswirkungen auf die Wachstumsleistung.

Der Einsatz eines abgestuften Anteils an SM (*Spirulina maxima*) in Futtermischungen von 4 - 2,5 % während der Mastdauer von Schweinen erbrachte tägliche LMZ, die auf einem vergleichbarem Niveau der Kontrollgruppe lagen (Saeid et al., 2013). Höhere LMZ bei Schweinen konnten durch die Zulage von SM bis max. 2 % in Futtermischungen beobachtet werden (Grinstead et al., 2000; Martinavičius, 2008; Šimkus et al., 2013; Nedeva et al., 2014). Diese Einsatzmengen liegen deutlich unter dem Einsatzniveau des SM in den vorliegenden Ferkelversuchen. In Ferkelversuch 1 wies sowohl die Mischung SM+ als auch die Mischung SM+AS signifikant geringere LMZ auf. Die Ursache der geringeren LMZ ist in der Unterversorgung einzelner AS zu suchen, wodurch ein unausgewogenes AS-Verhältnis entstand. Der Gehalt an His lag in Versuch 1 in beiden Futtermischungen, die SM enthielten (SM+ und SM+AS), 14 % (siehe Tabelle 36) unter den Bedarfsempfehlungen von BSAS (2003) und NRC (2012). Figueroa et al. (2003) beobachteten bei einer Supplementation von His und Val in Futtermischungen eine verbesserte LMZ bei Ferkeln. Zudem waren in der Mischung SM+ im Versuch 1 die Gehalte an Lys, Met+Cys, Thr, und Leu unter den Bedarfsempfehlungen (Tabelle 36) der GfE (2008). In Ferkelversuch 2 gab es keine signifikanten Unterschiede in der LMZ der Kontrollmischung und der Mischung SM+AS zu verzeichnen, was die gelungene Anpassung der AS-Verhältnisse (Tabelle 36) widerspiegelt. Keine AS lag unterhalb der Bedarfsempfehlungen. Die Mischung SM+ in Ferkelversuch 2 verzeichnete hingegen im Vergleich zur Mischung K signifikant schlechtere LMZ, was die Limitierung durch Lys und His unterstreicht. In den vorliegenden Versuchen 1 und 2 konnten keine signifikanten Unterschiede in der FI festgestellt werden. Eine weitere Ursache für die niedrigeren LMZ der SM-Mischungen könnte möglicherweise auch auf eine geringere Verdaulichkeit des SM zurückzuführen sein.

In Bezug auf den FA konnte festgestellt werden, dass die Mischung mit erweiterter AS-Supplementierung (SM+AS) in beiden Versuchen keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollmischung aufwies. Bei Versuchen mit Absetzferkeln (Grinstead et al., 2000) und Mastschweinen (Saeid et al., 2013) mit geringen Einsatzmengen von SM wurden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede im FA gefunden, was mit den vorliegenden Ergebnissen

übereinstimmt. Die Mischung SM+ in Versuch 1 und 2 wies hingegen einen signifikant höheren FA auf. Dies spiegelte sich in einem höheren Protein- und Energieaufwand dieser Mischungen wieder.

Eine positive Wechselbeziehung bestand zwischen einer erweiterten AS-Supplementation und den Aufwandsparametern. Futtermischungen mit zusätzlicher AS-Supplementation wiesen niedrigere Aufwandskennzahlen auf als Mischungen ohne zusätzliche AS-Ergänzung. Eine ausreichende Versorgung an essentiellen AS in der optimalen Zusammensetzung hatte auf diese Parameter einen positiven Einfluss. In den vorliegenden Studien wird deutlich erkennbar, dass sowohl die Kontrollmischung als auch die Mischungen mit zusätzlichen AS-Ergänzungen tendenziell höhere FI als die SM-Mischung ohne erweiterte AS-Supplementierung zeigten. Die Aufwandskennzahlen aller SM-Mischungen waren durchgehend höher als die entsprechenden Aufwandsparameter der Kontrollmischungen im Ferkelversuch 1 und 2. Grund für die genannten Beobachtungen können die geringen Gehalte einzelner AS in Mischung SM+ und SM+AS (Ferkelversuch 1) bzw. SM+ (Ferkelversuch 2) sein, die im Gegensatz zu den Kontrollmischungen deutlich unter den Bedarfsempfehlungen (GfE, 2008) lagen.

Scheinbare praecaecale Protein- und Aminosäureverdaulichkeit Ferkel

Angesichts der spcV von XP und den AS ist wie bei den Broilern zu beachten, dass die Stichprobengröße marginal war. Zudem traten analytische Probleme bei der Bestimmung des Indikators im Chymus auf. Die Probenmenge der Darminhalte reichte teils nicht aus, um die Analysen durchzuführen. Es gab keine signifikanten Unterschiede der spcV des XP zwischen den Mischungen K und SM+ sowohl in Versuch 1 als auch in Versuch 2 zu verzeichnen. In Versuch 1 traten bei der Mischung SM+ tendenziell höhere XP- und AS-Verdaulichkeiten auf. In Versuch 2 war die spcV von XP der Mischung SM+ tendenziell geringer im Vergleich zur Mischung K. Der einzig zu verzeichnete signifikante Unterschied trat in der spcV von Arg in der Mischung SM+ des Versuches 2 auf.

Die beobachtete spcV von XP, die in den untersuchten Mischungen auf vergleichbarem Niveau waren, spiegelte sich in den zootecnischen Parametern der Versuchsmischungen beider Versuche wieder. Abschließend ist für die Bewertung der scheinbaren praecaecalen AS-Verdaulichkeit analog zu den Broilern herauszustellen, dass es sich bei den untersuchten SM-Mischungen (SM+) um Mischungen mit nicht ausreichender AS-Versorgung handelte.

Wachstumsversuche Mastschweine

In den Schweinemastversuchen wurde der SM-Einsatz im Laufe der Mast von 8,31 % auf 6,6 % (Versuch 1) bzw. 12,46 % auf 9,92 % (Versuch 2) bis zum Erreichen von 75 kg LM gesenkt. Die Ergebnisse der Schweinemastversuche 1 und 2 mit einem Austauschlevel von 50 bzw. 75 % des SES durch SM stimmen mit den Ergebnissen der Ferkelwachstumsversuche 1 und 2 überein. Es gab weder bei der LMZ noch bei der FI und dem FA signifikante Unterschiede zwischen der Mischung K und SM+AS. Dieses Ergebnis kann durch die AS-Verhältnisse in Tabelle 37 bestätigt werden. Die einzige AS, die limitierend wirken konnte, war His in der SM+AS-Mischung im Abschnitt 25 - 50 und 50 - 75 kg LM des Schweinewachstumsversuches 1. Ähnliche Ergebnisse wurden bei Saeid et al. (2013) beobachtet. Der abgestufte Anteil an SM in Futtermischungen von 4 auf 2,5 % während der Mastperiode von Schweinen wirkte sich nicht negativ auf die FI und LMZ aus. In den vorliegenden Studien konnten die Feststellungen von Martinavičius (2008) und Šimkus et al. (2013), die durch eine geringe Zulage von 2 g frischer Spirulina-Alge pro Schwein und Tag höhere LM erreichten, nicht bestätigt werden.

Nach Nedeva et al. (2014) brachte eine geringe Menge an SM (bis zu 3 g pro Tier und Tag) in Futtermischungen einen signifikant höheren Futtermittelverzehr im Vergleich zur Kontrolle mit sich. Diese Beobachtung konnte nur in der Mischung SM+AS im Schweinewachstumsversuch 2 tendenziell bestätigt werden.

Bezüglich des Proteinaufwandes waren in Versuch 1 keine Unterschiede erkennbar. Dies kann durch den sehr ähnlichen XP-Gehalt der beiden Mischungen und dem ähnlich hohen Futtermittelverzehr sowohl im Versuchsabschnitt 25 - 50 kg LM als auch im Abschnitt 50 - 75 kg LM erklärt werden. In Versuch 2 war der Proteinaufwand in der SM+AS-Mischung signifikant erhöht. Der Energieaufwand in Versuch 1 und 2 war jeweils in der Mischung SM+AS signifikant höher als in der Mischung K. Dieser Effekt könnte aus dem höheren Energiegehalt der SM-Mischungen resultieren, da sich der Futtermittelverzehr und die LMZ bei den beobachteten Versuchsgruppen auf vergleichbarem Niveau befanden.

Tabelle 37: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen der Schweinewachstumsversuche 1 und 2

	Lys	Met+Cys	Thr	His	Ile	Leu	Val
Schweinewachstumsversuch 1							
Empfehlung (25-50 kg LM)	10,70 (100)	5,46 (100)	6,42 (100)	3,75 (100)	5,24 (100)	11,24 (100)	6,96 (100)
K	10,8 (101)	5,5 (101)	6,5 (101)	4,0 (107)	6,4 (122)	11,6 (103)	7,3 (105)
SM+AS	11,3 (106)	5,8 (106)	6,8 (106)	3,4 (91)	6,8 (130)	11,9 (106)	8,0 (115)
Empfehlung (50-75 kg LM)	9,40 (100)	4,79 (100)	5,64 (100)	3,29 (100)	4,61 (100)	9,87 (100)	6,11 (100)
K	9,5 (101)	5,1 (106)	5,7 (101)	3,6 (109)	5,8 (126)	10,5 (106)	6,7 (110)
SM+AS	9,9 (105)	5,1 (106)	6,0 (106)	3,2 (97)	6,0 (130)	10,8 (109)	7,2 (118)
Schweinewachstumsversuch 2							
Empfehlung (25-50 kg LM)	10,70 (100)	5,46 (100)	6,42 (100)	3,75 (100)	5,24 (100)	11,24 (100)	6,96 (100)
K	10,7 (100)	6,1 (112)	6,4 (100)	4,0 (107)	6,4 (122)	11,6 (103)	7,3 (105)
SM+AS	11,2 (105)	5,7 (104)	6,7 (104)	3,9 (104)	6,9 (132)	12,1 (108)	8,3 (119)
Empfehlung (50-75 kg LM)	9,40 (100)	4,79 (100)	5,64 (100)	3,29 (100)	4,61 (100)	9,87 (100)	6,11 (100)
K	9,5 (101)	5,1 (106)	5,7 (101)	3,6 (109)	5,8 (126)	10,5 (106)	6,7 (110)
SM+AS	9,9 (105)	5,1 (106)	5,9 (105)	3,4 (103)	6,2 (134)	10,9 (110)	7,5 (123)

K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung.

6.4 N-Bilanzmessungen Ferkel und Mastschweine

Die Bilanzversuche 1 zeigen die Veränderungen bezüglich der Proteinqualitäten und Verdaulichkeiten bei Ferkeln und Mastschweinen auf, wenn ein kompletter Austausch von SES durch SM erfolgt (Paper III). In den Ferkelmischungen wurden 21 % SM und in den Schweinemischungen 19 % SM eingesetzt.

Proteinqualität (NPU_{std}) und Verdaulichkeit

Die N-Ausscheidungen wurden durch die Trennung in die Fraktionen Kot und Harn bestimmt. Intermediär nicht verwerteter N wird mit dem Harn ausgeschieden. Eine höhere N-Menge im Harn deutet auf eine geringere Verwertung des N hin. Das unverdaute Futterprotein im Dickdarm führt zur Bildung von Ammoniak. Dieser wird größtenteils im Dickdarm

absorbiert. In der Leber wird Ammoniak zu Harnstoff umgewandelt und über den Harn ausgeschieden (Moughan, 1993; Wesseling, 2003).

Tabelle 38: AS-Empfehlungen und erreichtes AS-Niveau (g/kg FS) in den Futtermischungen des N-Bilanzversuches 1 der Ferkel und Mastschweine

	Lys	Met+Cys	Thr	His	Ile	Leu	Val
Empfehlung Ferkelbilanz 1	12,70 (100)	6,35 (100)	7,62 (100)	4,32 (100)	6,22 (100)	12,70 (100)	7,87 (100)
SM+	<u>10,2</u> (80)	<u>5,7</u> (90)	<u>7,3</u> (96)	<u>3,0</u> (70)	8,1 (130)	13,8 (108)	9,8 (125)
SM+AS	12,7 (100)	6,4 (100)	7,6 (100)	<u>3,0</u> (70)	8,1 (130)	13,7 (108)	9,9 (127)
Empfehlung Schweinebilanz 1	9,40 (100)	4,79 (100)	5,64 (100)	3,29 (100)	4,61 (100)	9,87 (100)	6,11 (100)
SM+	<u>7,6</u> (80)	5,0 (104)	5,7 (102)	<u>2,7</u> (82)	6,2 (135)	10,9 (111)	7,7 (126)
SM+AS	9,4 (100)	5,0 (104)	5,7 (102)	<u>2,7</u> (82)	6,2 (135)	10,9 (111)	7,7 (126)
SM+AS _{His}	9,4 (100)	5,0 (104)	5,7 (102)	3,7 (112)	6,2 (135)	10,9 (111)	7,7 (126)

K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM+AS_{His}= SM mit erweiterter AS-Supplementierung und zusätzlich His.

In den vorliegenden Studien wurden keine signifikanten Auswirkungen auf die mittlere Körpermasse der Ferkel ($p = 0,736$) bei einer Einsatzhöhe von 21 % SM und wachsenden Mastschweinen ($p = 0,206$) bei einer Einsatzhöhe von 13 % SM in den Futtermischungen beobachtet (Paper III). Darüber hinaus gab es keinen signifikanten Einfluss auf die FI bei Ferkeln im Gegensatz zu den Mastschweinen. Diese Parameter wurden jedoch nur innerhalb des Zeitraumes von N-Bilanzstudien (10 Tage) gemessen und dürfen nicht überinterpretiert werden. Untersuchungen haben gezeigt, dass sich SM als gute Proteinquelle in Schweinemischungen eignet (Février und Sève, 1976; Yap et al., 1982; Hugh et al., 1985; Grinstead et al., 2000).

Die allgemeine Feststellung dieser Studie ist, dass das Mehl der Mikroalge *Spirulina platensis* (SM) mit einer Einsatzhöhe von 21 % (Ferkel) und 13 % (Mastschweine) eine nützliche Proteinalternative sowohl bei Futtermischungen für Ferkel als auch für wachsende Schweine sein kann. Die hohe Menge von SM wurde eingesetzt, um das Potenzial, aber auch die Grenzen der zu untersuchenden alternativen Proteinquelle aufzuzeigen, wenn das AS-Gleichgewicht in der Futtermischung nicht ausreichend berücksichtigt wird.

In den N-Bilanzstudien bei den Ferkeln und Mastschweinen wurden aus Kapazitätsgründen keine Kontrollmischungen mit der Hauptproteinquelle SES geprüft. In Paper III wurden die Ergebnisse der SM-Mischungen deshalb ausschließlich mit den HM-Mischungen verglichen.

In Bezug auf die in den vorliegenden Studien beobachtete N-Verdaulichkeit (Ferkel und Mastschwein) erreichten HM-Mischungen eine bessere N-Verdaulichkeit als die SM-Mischungen, die die Schlussfolgerung stützen, dass insbesondere das Algenmehl von *Spirulina platensis* schlechter verdaulich ist als das Insektenlarvenmehl. Das Ausmaß der AS-Supplementierung in den experimentellen Mischungen war kein Faktor mit signifikantem Einfluss auf die beobachtete N-Verdaulichkeit. Février und Sève (1976) zeigten, dass die Verdaulichkeit von Futtermischungen bei Einarbeitung von SM etwas geringer war. Martinavičius (2008) stellte bei Schweinen, die in der Futtermischung einen geringen Zusatz von SM (2 g/Tag) erhielten, numerisch höhere tägliche Zunahmen sowie eine gesteigerte Verdaulichkeit von Fett, organischer Substanz und Protein fest. Die sehr geringe Supplementierung von SM in dieser Futtermischung könnte die Auswirkungen auf die Proteinverdaulichkeit erklären. Nach dem aktuellen Kenntnisstand liegen keine weiteren relevanten Studien vor, die die Verdaulichkeit von SM in Schweinemischungen bewerten.

In der Ferkelperiode wurde eine tendenziell höhere Proteinqualität (NPU_{std}) für die Mischung SM+AS im Vergleich zur Mischung SM+ beobachtet. Bei den Schweinemischungen erzielte die Mischung SM+AS_{His} sogar eine signifikant höhere Proteinqualität im Vergleich zu den Mischungen SM+ und SM+AS. Die verbesserte AS-Balance nach erweiterter AS-Supplementierung war dabei ein wichtiger Einflussfaktor. Die Ergebnisse haben deutlich gezeigt, dass Mischungen mit SM und einem erweiterten AS-Supplementierungsniveau überlegene Parameter der Futterproteinqualität ergaben. Die tatsächliche AS-Ergänzung zielte darauf ab, die aktuelle Annahme des IAAR zu erfüllen (GfE, 2008). Die Mischung SM+AS für Ferkel mit erweiterter AS-Supplementierung erreichte im Vergleich zur Mischung SM+ keine signifikant verbesserte Futterproteinqualität. Da der Gehalt von His unter 30 % der Empfehlung von NRC (2012) und BSAS (2003) blieb, könnte His limitierend gewesen sein. Bei den Mastschweinen erreichte die erweiterte AS-Supplementierung mit Mischung SM+AS nur eine numerische Erhöhung der Proteinqualität. Die zusätzliche Supplementation von His in Mischung SM+AS_{His} führte zu einer signifikanten Verbesserung der Proteinqualität und unterstreicht His als limitierende AS in der Mischung SM+AS. Dementsprechend konnte der erhöhte Gehalt an Lys in der Mischung SM+AS die Proteinqualität der Mischung nicht

verbessern, erst die Supplementierung von His in der Mischung SM+AS_{His} lieferte eine signifikant höhere Proteinqualität.

Hinsichtlich der vorliegenden Empfehlungen für eine optimale Versorgung mit His wird eine große Variation beobachtet. Die Empfehlungen der GfE (2008) für Ferkel sind wesentlich höher (+15 %) im Vergleich zu NRC (2012) und BSAS (2003). Auch für wachsende Schweine wurden in den GfE-Empfehlungen höhere Konzentrationen für His (+17 - 26 %) empfohlen (GfE, 2008). Folglich lieferte die Mischung SM+AS_{His} mit 3,68 g His/kg (Relation Lys His = 100:35) 12 % mehr His als von NRC (2012) und BSAS (2003) empfohlen. Unter Berücksichtigung der GfE (2008) Empfehlungen (Relation Lys:His = 100:47) könnte sie immer noch die begrenzende AS sein. Dementsprechend könnte die Empfehlung von NRC (2012) und BSAS (2003) für eine optimale Versorgung mit His zu niedrig sein. Die begrenzte Anzahl von Wiederholungen mit dieser Mischung erlaubt aber noch keine finale Bewertung.

6.5 Übergreifende Diskussion

Die Verwendung von SM als rein proteinäquivalente Substitution des SES ist an bestimmte Voraussetzungen wie Akzeptanz des Futtermittels beim Tier, Komplementäreffekte im AS-Profil im direkten Vergleich zu SES und hohe Bioverfügbarkeit der Inhaltsstoffe gebunden. Zusätzlich ist die Sicherheit und Verträglichkeit des SM zu prüfen, d.h. es dürfen keine toxikologischen Effekte auf das Tier entstehen. Das Produkt muss frei von Schadstoffen und schädlichen Mikroorganismen sein. Sind diese Voraussetzungen erfüllt, sollten die technologischen und sensorischen Eigenschaften nach Verabreichung von SM des Endproduktes (Fleisch) festgestellt sowie die Preiswürdigkeit des SM im Vergleich zu SES oder anderen klassischen Proteinträgern in der Tierernährung verglichen werden. Diese Kriterien ermöglichen u.a. auch, Einsatzbegrenzungen des SM in der Broiler- und Schweineernährung zu eruieren, was Teil der allgemeinen Diskussion ist.

Die Ergebnisse der Wachstums- und N-Bilanzversuche der Broiler sowie der Ferkel- und Mastschweine zeigten in Bezug auf den Substitutionserfolg des SES durch SM Parallelen. Bei nicht adäquater AS-Versorgung kam es zu deutlichen Leistungseinbußen, die durch ein erweitertes AS-Angebot weitestgehend ausgeglichen werden konnten. Die Tiere haben die Mischung SM+AS (mit erweiterter AS-Versorgung) als Futter gut akzeptiert.

In den vorliegenden Studien war die Wachstumsleistung der Tiere stark von der FI abhängig. Dabei kann ein unausgewogenes AS-Verhältnis in der Futterration leistungsbegrenzend für die FI wirken (Boorman, 1979; Haupt und Haupt, 1991; Henry et al., 1992; Forbes und

Shariatmadari, 1994). Die Auswirkungen auf die FI und das Wachstum sind hierbei von der Art der fehlenden AS abhängig. Nach Forbes (2007) können schwach auftretende Imbalancen des AS-Verhältnisses in Futtermischungen durch eine erhöhte FI der Tiere kompensiert werden. Treten stärkere AS-Imbalancen auf, funktioniert die Kompensation nicht mehr. Die Tiere reagieren folglich mit einer Verzehrdepression (Boorman, 1979).

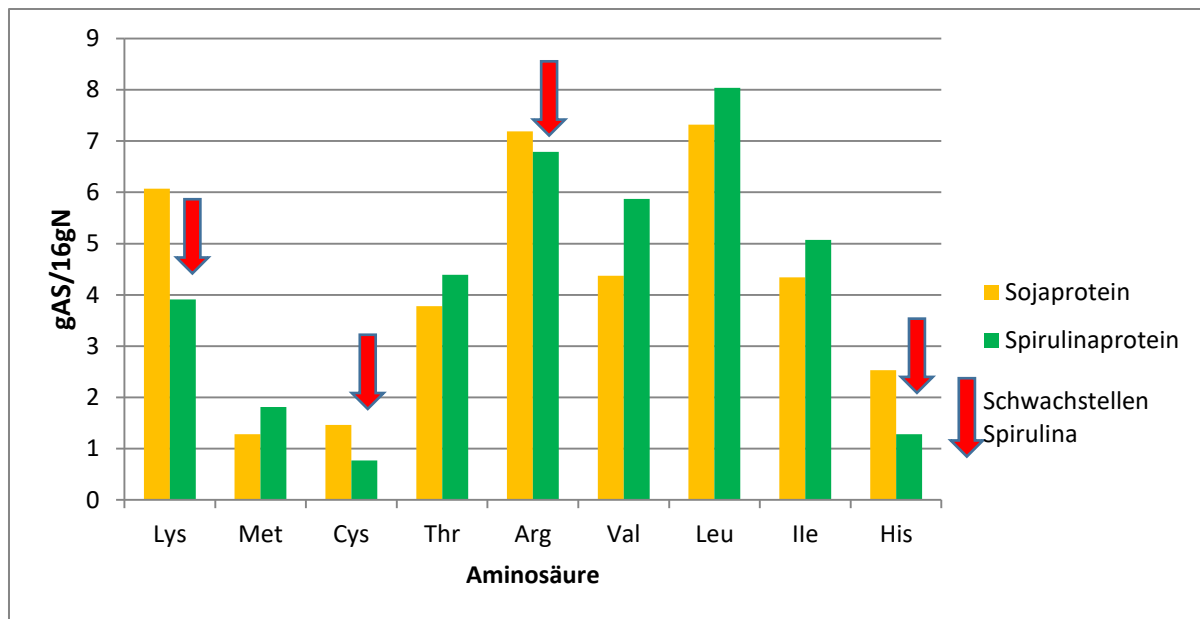
Dieser Effekt war bei den Broilern deutlicher erkennbar als bei den Ferkeln und Mastschweinen. Henry et al. (1992) stellten bei der Fütterung von Schweinen, die einen Lys-Mangel in der Ration verabreicht bekamen, fest, dass nur das Wachstum und nicht die FI beeinträchtigt wurden. Hingegen dazu wurde ein Rückgang der FI und der LMZ bei niedrigem Trp-Gehalt in der Mischung beobachtet (Henry et al., 1992). Bei einem hohen Substitutionsgrad von SES durch SM wurden vor allem bei den Broilern höhere Anforderungen an die AS-Ausgleiche gestellt. Beim Schwein macht der gesamte Verdauungskanal die 15-fache Länge des Körpers und beim Geflügel nur die 6-fache Länge des Körpers aus. Die Verweildauer der Nahrung im Verdauungstrakt von Broilern ist – bedingt durch den relativ kleinen Darm – kurz (Eder und Roth, 2014). Dementsprechend beanspruchen Geflügel Futtermittel mit hoher Nährstoffkonzentration und leicht abbaubaren bzw. hochverdaulichen Inhaltsstoffen (Dänicke und Jeroch, 2008; Eder und Roth, 2014), was die Unterschiede begründen könnte. Weiterhin zeigte die Untersuchung der spcV von XP, dass SM-Mischungen im Vergleich zu SES-Mischungen von den Ferkeln besser verdaut werden konnte als von Broilern.

Die Grundlage, warum die alternative Proteinquelle im Vergleich zu SES nur unter der Bedingung eines erweiterten AS-Niveaus vielversprechende Ergebnisse lieferte, ist in Abbildung 23 verdeutlicht. Die Abbildung 23 zeigt die erheblichen Abweichungen der AS-Gehalte in der Proteinfraction von SM1 im Vergleich zu SES und demonstriert dabei, was passiert, wenn SES komplett durch SM ersetzt wird. Die Hauptschwachstellen bei der AS-Versorgung durch SM liegen bei Lys, His, Cys und Arg. Erfolgt bei der Substitution des SES durch SM kein adäquater Ausgleich dieser AS in kristalliner Form, kommt es zu deutlichen Leistungseinbußen.

Eine futtermittelrechtliche Sonderstellung stellt das kristalline His dar. His wurde teilweise in den SM-Futtermischungen supplementiert und erbrachte im Falle der Mischung SM+AS_{His} des Bilanzversuches Schwein sogar eine signifikant verbesserte Proteinqualität. Aktuell ist allerdings nach Verordnung (EC) Nr. 1831/2003 bzw. VO (EG) Nr. 244/2007 L-Histidin-Monohydrochlorid-Monohydrat, erzeugt von *Escherichia coli*, nur für Salmoniden

zugelassen. Dies verdeutlicht, dass bei einem hohen Austauschniveau des SES durch SM der His-Mangel in der kommerziellen Fütterung aufgrund des bestehenden Futtermittelrechtes nicht ausgeglichen werden kann. Es deutet sich an, dass eine Erweiterung der Zulassung unter dem Aspekt alternativer Proteinquellen sinnvoll sein könnte.

Abbildung 23: Vergleich der AS-Gehalte (gAS/16gN) von Sojaprotein und Spirulinaprotein



In den Futtermischungen für Broiler lag generell ein AS-Überschuss in Form von Phe+Tyr sowie Leu und Ile vor. In den Futtermischungen der Ferkel und Mastschweine war dagegen ein Überschuss von Ile und Val zu verzeichnen. Dieser Umstand sorgte zusätzlich für ein Ungleichgewicht der AS-Verhältnisse. Eine im Überschuss vorhandene AS führt zu einer beschleunigten Katabolisierung dieser AS und erhöht dabei den Bedarf anderer AS (Nesheim et al., 1972). Eine Studie von Benevenga et al. (1993) zeigte, dass ein Überschuss von Phe einen verstärkten Abbau bewirkte und ein Mangel an His ebenfalls den Abbau des Phe erhöhte. Nach D'Mello und Lewis (1970a) und Niess (1978) besteht eine solche Interaktion zwischen Lys und Arg. Ebenso können Wechselwirkungen zwischen Leu und Val (Pastor, 2014; Stangl, 2010; D'Mello und Lewis, 1970b) sowie Thr und Trp (D'Mello und Lewis, 1970b) bestehen. Die Desaminierung und Ausscheidung der überschüssigen AS über den Harnsäurezyklus (Broiler) bzw. Harnstoffkreislauf (Schwein) sind mit energetischen Aufwendungen verbunden (Forbes und Shariatmadari, 1994). Negative Auswirkungen eines individuellen AS-Überschusses und deren Folgen können in den vorliegenden Studien nicht ausgeschlossen werden. Daraus folgt, dass eine optimale Anpassung der AS an das IAAR von zentraler Bedeutung ist.

Die Wichtigkeit einer ausreichenden AS-Versorgung nach dem IAAR bei Broilern zeigten auch histologische Untersuchungen (Neumann et al., 2017). Eine erweiterte AS-Versorgung durch Anpassung an das IAAR hatte positive Auswirkungen auf die Länge der Darmzotten im oberen Teil des Dünndarms zur Folge.

Die mikrobiologischen Erkenntnisse des Broiler-Wachstumsversuches 1 (Velten et al., 2018b) und des Broiler-Wachstumsversuches 2 (Neumann et al., 2017) zeigten kein Vorhandensein von Salmonellen, Campylobacter, E. coli und Clostridien in den Futtermischungen. In den Chymusproben wurden ebenfalls keine Salmonellen, Campylobacter und Parasiten entdeckt. In beiden Versuchen war die Anzahl an Enteriobakterien in den Chymusproben der SM-Broiler niedriger im Vergleich zu den Kontrollmischungen. Velten et al. (2018a) untersuchten den Gesundheitsstatus von Broilern, die mit SM gefüttert wurden. Die histologischen Auswertungen aller Organgewebeproben zeigten, dass es nur geringe Veränderungen zwischen der Kontroll- und SM-Mischung gab. Die Gesundheit von Broilern wurde durch den 50 %-igen Austausch von SES durch SM nicht beeinflusst. Diese Erkenntnis zeigt, dass sich SM aus gesundheitlicher und mikrobiologischer Sicht bedenkenlos an Nutztiere verfüttern lässt.

Probleme bei der Bewertung von SM als alternative Proteinquelle können die im Literaturteil erläuterten ernährungsphysiologischen Eigenschaften der Algenmehle aus *Spirulina platensis* mit sich bringen, die durch die schwankenden Nährstoffgehalte sowie schwankende AS-Muster und unterschiedliche Proteinqualitäten gekennzeichnet sind. Diese Faktoren können durch diverse Kultivierungsverfahren (offene/geschlossene Systeme; Chung et al., 1978), Nährmedien (eine erhöhte Bakterienbelastung im Nährmedium kann zu Schwankungen im AS-Muster des Algenmehles führen, da diese Bakterien andere AS produzieren) oder Trocknungsprozesse (die Verfügbarkeit der AS und der Vitamine können eingeschränkt werden bzw. der Stärke- und Zuckergehalt kann verändert werden; Ross und Dominy, 1990) beeinflusst werden.

Diese Variabilität in den Nährstoffen wird allein in den vorliegenden zwei SM-Chargen (Kapitel 4.2) deutlich. Das SM2 besitzt anteilmäßig höhere Gehalte an XP, XA, und XL, wodurch im Vergleich zur SM1 die NfE deutlich geringer ausfallen.

Laut Literatur liegen die AS-Gehalte im Protein von SM sehr variabel vor. Insbesondere Lys, SAS, Try, Ile und His zeigen eine hohe Variabilität (AMINODat® 5.0, 2016). Es ist daher unerlässlich, die AS-Gehalte in SM konkret zu analysieren. Die niedrigen SAS-Gehalte in SM

(Tabelle 1, Literaturübersicht) weisen zudem ein im Vergleich zu SES weites Verhältnis von Met:Cys auf. Erfolgt kein Ausgleich dieser AS in der Futtermischung, könnte eine höhere Cys-Bereitstellung aus dem Met-Abbau folgen (Sünder et al., 2015a, b; Wecke et al., 2015).

Diese Variabilität in der Nährstoffzusammensetzung macht es erforderlich, jede Charge an *Spirulina platensis* vor dem Einmischen in eine Futtermischung zu analysieren. Dies betrifft sowohl die Rohnährstoffe als auch die einzelnen AS. Nur bei genauen Kenntnissen über die AS-Zusammensetzung der *Spirulina platensis* ist ein optimaler Einsatz in der Futtermischung möglich.

Begrenzungen für den Einsatz von SM in Futtermischungen könnten die Hinweise auf sensorisch bedingte Aspekte sein. Verzögerte FI können durch die intensiv grüne Verfärbung des Futters sowie die Abneigung des leichten Fischgeruches und der feinpulvrigen Konsistenz bedingt sein (Becker, 2007; Bellof und Carrasco-Alarcón, 2013). Bellof und Carrasco Alarcón (2013) sprechen von antinutritiven Faktoren im Spirulinaprodukt, welche die FI zusätzlich beeinträchtigen können, bei gleichzeitig hoher Verdaulichkeit von essenziellen AS des SM. Zudem werden Faktoren wie eine Störung des Säure-Basen-Haushaltes, ein hoher Aschegehalt sowie eine Beeinflussung der Pufferkapazität im Ferkel-Magen durch den Einsatz von SM diskutiert (Lum et al., 2013).

Zur Einsatzbegrenzung kann auch der hohe Carotinoid-Gehalt im SM führen, da er zu einer intensiven Pigmentierung der Fett- und Fleischfarbe sowie von Haut, Depotfett, Brust- und Schenkelmuskulatur bei Masthähnchen beiträgt (Venkataraman et al., 1994; Toyomizu et al., 2001). Diese Beobachtung konnte durch Altmann et al. (2018a) bei Broilern bestätigt werden, die Fleischfarbe war dunkel rot-gelblich gefärbt. Es muss daher untersucht werden, ob die Verbraucher die dunklere Fleischfarbe akzeptieren, bevor das Fleisch in die kommerzielle Produktionskette aufgenommen werden kann (Altmann et al., 2018a). Eine dunkel orange-rote Färbung wurde parallel in den vorliegenden Versuchen bei den Ständern der Broiler beobachtet. Altmann et al. (2018b) konnten den Effekt der verstärkten Pigmentierung der Fleischfarbe bei Schweinen nicht feststellen. Die Fleischqualität bei Broilern und Schweinen wurde durch den Einsatz von SM nach Altmann (2018a, b) nicht beeinträchtigt und führte sogar zu verbesserten Eigenschaften, z.B. ein erhöhtes Vorkommen von mehrfachungesättigten Fettsäuren (Altmann, 2018b).

Zudem sind die Verarbeitungseigenschaften des feinpulvrigen SM intensiv zu prüfen. Evans et al. (2015) spekulierten, dass das feinpulvrige SM ein Pelletbinder sei, wodurch – wie in 6.1

beschrieben – die Pellets sehr hart werden. In Wachstumsversuch 3 konnte dies mit dem SM2 ebenso beobachtet werden, was auch an dem geringeren Sojaöl-Anteil und der im Gegensatz zu SM1 durch die Sprühtrocknung noch feineren Struktur des SM in den SM-Mischungen gelegen haben könnte. Ebenso konnten bei den Broilern, die SM in den Futtermischungen verabreicht bekamen, vermehrt Verklebungen der Schnäbel sowie Verschmutzungen der Kloaken beobachtet werden. Es scheint, dass SM in Verbindung mit Flüssigkeit viskos, klebrig und hart wird, was durch die Polysaccharide im SM erklärt werden könnte (Filali Mouhim et al., 1993). Parallel war zu beobachten, dass die klebrigen Ausscheidungen und Futterpartikel in Verbindung mit Feuchtigkeit und der Einstreu zu einem harten Gemisch geführt hat, welches an den Zehen der Tiere stark haftete.

Eine weitere Grenze für den Einsatz des SM in Futtermischungen ist die ökonomische Betrachtung, vor allem aus Sicht der landwirtschaftlichen Erzeuger und Futter-/Mischfutter-Produzenten. Die finanziellen Aufwendungen der Nutztierhaltung und somit auch der Fleischproduktion sind maßgeblich über den Anteil der Futterkosten bestimmt. Die bisher hohen Produktionskosten sowie die gering verfügbaren Produktionsmengen von *Spirulina platensis* führen gegenwärtig zu einer nicht ausreichenden Wirtschaftlichkeit beim Einsatz der Mikroalge als Proteinquelle. Der Preis für 1 kg SM liegt bei 6 € (Stand 2018, mündliche Überlieferung, Erhard Andreas GmbH) bis 6,50 € (Bellof und Carrasco Alarcón, 2013). Die Preise für SES liegen momentan bei ca. 0,40 €/kg (Stand Juli 2018, Agrarheute). Ein zusätzlicher Kostenpunkt entsteht durch das unerlässliche Hinzufügen von kristallinen AS. Hier belaufen sich die Kosten z.B. für L-Lys·HCl (ca. 80 % reines Lys) auf etwa 3 €/kg (Sommer, 2004), was deutlich unter dem kg-Preis des SM liegt, trotzdem aber berücksichtigt werden muss.

Abschließend kann festgehalten werden, dass SM in Futtermischungen bei adäquater AS-Supplementation für den Einsatz in der Tierernährung unter der Prämisse der diskutierten Fragestellungen geeignet ist.

7 Schlussfolgerungen

Ernährungsphysiologisch eignet sich *Spirulina platensis* unter Berücksichtigung einer adäquaten Aminosäuren (AS)-Ergänzung als Proteinquelle in der Masthähnchen- und Schweinefütterung. Die Einsatzhöhe (50 %, 75 % oder 100 % Austausch des Sojaextraktionsschrotes durch Spirulinamehl) der alternativen Proteinquelle in Futtermischungen erwies sich als weniger bedeutsam als die optimierte AS-Versorgung durch kristalline AS gemäß dem idealen AS-Verhältnis (IAAR).

Die erweiterte AS-Supplementation der Mischungen mit SM hat in der Broilerernährung eine wesentlich höhere Bedeutung als in der Schweineernährung. In den Broilermischungen mit SM wurden deutlich mehr kristalline AS hinzugefügt im Vergleich zu den Ferkel- und Schweinemischungen, um dem jeweiligen IAAR gerecht zu werden. Ebenso waren die Effekte einer suboptimalen AS-Versorgung bei den Schweinen geringer als bei den Broilern.

Blieb die AS-Supplementation in den Broilermischungen mit SM auf gleichem Niveau wie in der Kontrolle mit SES oder wurde die erstlimitierende AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt, kam es zu signifikant schlechteren Ergebnissen in den Wachstums- und N-Bilanzstudien.

Auch bei den Ferkeln führte kein adäquater AS-Ausgleich zu tendenziell bzw. signifikant schlechteren Ergebnissen in den Wachstums- und N-Bilanzstudien.

Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um Potenziale der alternativen Proteinquelle durch AS-Ergänzungen noch besser auszuschöpfen. Da keine ausreichenden Erklärungen für das Nichterreichen der Proteinqualität der SM-Mischungen mit erweiterter AS-Ergänzung und des XP-Ansatzes der dazugehörigen Broiler im Vergleich zur Kontrolle gefunden werden konnten, sollte der Fokus auf die Proteinqualität, die Verdaulichkeit und den Rohproteinansatz gelegt werden. Es sind Untersuchungen zur Wirksamkeit einzelner Aminosäuren in dem alternativen Proteinträger erforderlich.

Um *Spirulina platensis* als alternative Proteinquelle zu generieren, muss allerdings eine wirtschaftlich relevante Erzeugung eines standardisierten qualitätsstabilen Produktes entwickelt werden.

8 Ausblick und weitere Forschungsansätze

Für den Einsatz der Mikroalge *Spirulina platensis* als alternative Proteinquelle in der Monogastridenernährung sind weitere Forschungsansätze in Zukunft von hoher Bedeutung.

Es sind ernährungsphysiologische Untersuchungen erforderlich, um die Potenziale der alternativen Proteinquelle durch AS-Ergänzungen noch besser auszuschöpfen. Weiterhin sind Untersuchungen zur Wirksamkeit einzelner AS in SM erforderlich, was die Wichtigkeit der Herabsetzung einzelner AS in Bezug auf das IAAR verstärkt.

Es muss gelingen, ein standardisiertes qualitätsstabiles Produkt zu generieren. Dabei ist zu prüfen, inwieweit die Variabilität der Inhaltsstoffe minimiert werden kann.

Mehr Wissen über die Möglichkeiten der kommerziellen Erzeugung von *Spirulina platensis* muss gewonnen werden, um den Einsatz des SM in der Tierernährung wirtschaftlich interessant zu gestalten.

In der kommerziellen Hähnchen- und Schweinefütterung wird ein Austauschniveau von SES durch 100 % SM nicht praxisrelevant sein. Die hohen Substitutionsraten in den vorliegenden Studien wurden gewählt, um die Potenziale des SM auszuschöpfen. Der Fokus sollte auf einen geringen Einsatz des SM in Futtermischungen (5 bis 10 %) gelegt werden. Dadurch wird auch der Einsatz von kristallinen AS gesenkt.

Des Weiteren ist zu prüfen, inwieweit aufgrund der Ergebnisse der Kooperationspartner die histologischen und mikrobiologischen Untersuchungen vertieft werden müssen. Es ist zu hinterfragen, ob die Auswahl der Futtermischungen für die scheinbare praecaecale Verdaulichkeit sowie mikrobiologischen und histologischen Untersuchungen richtig war. Zu erörtern wäre, ob für die beschriebenen Untersuchungen nicht besser die SM-Mischungen mit erweiterter AS-Supplementierung zu verwenden sind.

Ferner sind auch Untersuchungen auf die Auswirkungen eines hohen Einsatzes von *Spirulina platensis* auf die Fleischqualität zu beurteilen, wie es von Arbeitspaket III des Projektes „Sustainability Transitions“ durchgeführt wurde.

Ein zentraler Punkt, der in Zukunft zu beachten ist, ist die Nachhaltigkeitsbewertung (auch auf Grundlage des Life Cycle Assessment) der Erzeugung von *Spirulina platensis* im Vergleich zu Sojaextraktionsschrot.

9 Literaturverzeichnis

- Adrian, J. (1975). Evolutions de la Lysine des Algues Spirulines Soumises a des Traitements Thermiques Varies. *Annales de la Nutrition et de l'Alimentaire*, **29**, 603-613.
- Akhilender Naidu, K., Sarada, R., Manoj, G., Khan, M.Y., Mahadeva Swamy, M., Viswanatha, S., Narasimha Murthy, K., Ravishankar, G.A., Srinivas, L. (1999). Toxicity Assessment of Phycocyanin – A Blue Colorant from Blue Green Alga *Spirulina platensis*. *Food Biotechnology*, **13**, 51-66.
- Alpag (2013). Marktanalyse Mikroalgenproduktion. Alpag, Algen-Parks Aktiengesellschaft. Berlin-Grunewald, Germany.
- Altmann, B.A., Neumann, C., Velten, S., Liebert, F., Mörlein, D. (2018a). Meat Quality from High Inclusion of a Micro-Alga or Insect Meal as an Alternative Protein Source in Poultry Diets: A Pilot Study. *Foods*, **7**, 1-15.
- Altmann, B.A., Neumann, C., Velten, S., Liebert, F., Mörlein, D. (2018b). Do Dietary Soy Alternatives Lead to Pork Quality Improvements or Drawbacks? A Look into Micro-Alga and Insect Protein in Swine Diets. *Prepared for Submission*.
- Alvarenga, R.R., Rodrigues, P.B., De Souza Cantarelli, V., Zangeronimo, M.G., Da Silva Júnior, J.W., Da Silva, L.R., Dos Santos, L.M., Pereira, L.J. (2011). Energy Values and Chemical Composition of *Spirulina (Spirulina platensis)* Evaluated with Broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **40**, 992–996.
- AMINODat® 5.0 (2016). Published by Evonik Degussa GmbH.
- Aouir, A., Amiali, M., Bitam, A., Benchabane, A., Raghavan, V.G. (2017). Comparison of the Biochemical Composition of Different *Arthrospira platensis* Strains from Algeria, Chad and the USA. *Journal of Food Measurement and Characterization*, **11**, 913-923.
- Austic, R.E., Mustafa, A., Jung, B., Gatrell, S., Lei, X.G. (2013). Potential and Limitation of a New Defatted Diatom Microalgal Biomass in Replacing Soybean Meal and Corn in Diets for Broiler Chickens. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **61**, 7341–7348.
- Aviagen (2014a). Ross 308 Boiler. Performance Objectives.
http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-308-Broiler-PO-2014-EN.pdf, (26.05.2017).

- Aviagen (2014b). Ross 308 Broiler. Standard und Sollwerte. Handbuch.
- Baker, D.H. (1997). Ideal Amino Acid Profiles for Swine and Poultry and their Applications in Feed Formulation. *BioKyowa Technology Review*, **9**, 1-24.
- Baker, D.H., Batal, A.B., Parr, T.M., Augspurger, N.R., Parsons, C.M. (2002). Ideal Ratio (Relative to Lysine) of Tryptophan, Threonine, Isoleucine, and Valine for Chicks During the Second and Third Weeks Posthatch. *Poultry Science*, **81**, 485-494.
- Baumgärtel, T., Wölfel, S., Zorn, W., Degner, J., Götz, R. (2014). Leitlinie zur effizienten und umweltverträglichen Erzeugung von Sojabohnen. Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (Hrsg.). Jena, Germany.
- Becker, E.W. (1988). Micro-Algae for Human and Animal Consumption. In: Borowitzka, M.A. und Borowitzka, L.J. (Hrsg.). *Microalgal Biotechnology*. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 222-256.
- Becker, E.W. (2004). Microalgae in Human and Animal Nutrition. In: Richmond, A. (Hrsg.). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science. Oxford, UK, 312–351.
- Becker, E.W. (2007). Micro-Algae as a Source of Protein. *Biotechnology Advances*, **25**, 207-210.
- Becker, E.W. und Venkataraman, L.V. (1982). *Biotechnology and Exploitation of Algae – The Indian Approach*. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (Hrsg.). Eschborn, Germany.
- Becker, E.W. und Venkataraman, L.V. (1984). Production and Utilization of the Blue-Green Alga *Spirulina* in India. *Biomass*, **4**, 105–125.
- Belitz, H.-D. und Grosch, W. (1987). *Lipide. Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 3. überarbeitete Auflage. Springer-Verlag. Berlin und Heidelberg, Germany.
- Bellof, G. und Carrasco Alarcón, L.S. (2013). Einsatz der Mikroalge *Spirulina platensis* in der ökologischen Broilermast. *Archiv für Geflügelkunde*, **77**, 73-80.
- Bender, A. und Miller, D (1953). A New Brief Method of Estimating Net Protein Value. *Biochemical Journal*, **53**.

- Benemann, J. (2013). Microalgae for Biofuels and Animal Feeds. *Energies*, **6**, 5869–5886.
- Benevenga, N.J., Gahl, M.J., Blemings, K.P. (1993). Role of Protein Synthesis in Amino Acid Catabolism. *Journal of Nutrition*, **123**, 332-336.
- Bensehaila, S., Doumandji, A., Boutekrabt, L., Manafikhi, H., Peluso, I., Bensehaila, K., Kouache, A., Bensehaila, A. (2015). The Nutritional Quality of *Spirulina platensis* of Tamenrasset, Algeria. *African Journal of Biotechnology*, **14**, 1649-1654.
- Bippes, M., Brauer, T., Brück, T., Buchholz, R., Cotta, F., Friedl, T., Griehl, C., Griesbeck, C., Heckenberger, U., Kistenmacher, H., Michels, J., Mostertz, M., Muffler, K., Müller-Rees, C., Posten, C., Ripplinger, P., Schmidt, K., Stute, S., Trösch, W., Verseck, S. (2016). Mikroalgen-Biotechnologie. Gegenwärtiger Stand, Herausforderungen, Ziele. DECHEMA-Fachgruppe „Algenbiologie“ (Hrsg.). Dechema Biotechnologie. Frankfurt, Germany.
- Boorman, K.N. (1979). Regulation of Protein and Amino Acid Intake. In: Boorman, K. N. und Freeman, B.M., (Hrsg.). Food Intake Regulation in Poultry. Longman. Edinburgh, UK, 87-126.
- Borowitzka, M.A. (1988). Vitamins and Fine Chemicals from Micro-Algae. In: Borowitzka, M.A. und Borowitzka, L.J. (Hrsg.). Microalgal Biotechnology. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 153-195.
- Boudène, C., Collas, E., Jenkins, C. (1975). Recherche et Dosage de Divers Toxiques Minéraux dans les Algues Spirulines de Différentes Origines, et Évaluation de la Toxicité a Long Terme Chez le Rat d'un lot d'Algues Spirulines de Provenance Mexicaine. *Annales de la Nutrition et de L'Alimentation*, **29**, 577-587.
- Brandt, M. und Allam, S.M. (1987). Analytik von TiO₂ im Darminhalt und Kot nach Kjehldahlaufschluss. *Archives of Animal Nutrition*, **37**, 453-454
- Brede, A., Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2016). Evaluation of *Hermetia illucens* and *Spirulina platensis* Proteins in Semi-Synthetic Diets for the Laboratory Rat. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*. DLG-Verlag. Frankfurt am Main, Germany, **25**, 31.

- Brune, H. (1982). Zur Verträglichkeit der Einzelleralgen *Spirulina maxima* und *Scenedesmus acutus* als alleinige Eiweißquelle für Broiler. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde*, **48**, 143-154.
- BSAS (2003). Nutrient Requirements Standards for Pigs. In: Whittemore, C.T., Hazzledine, M.J., Close, W.H. (Hrsg.). British Society of Animal Science (BSAS). Penicuik, UK.
- Bujard, E., Braco, U., Mauron J., Mottu, F., Nabholz, A., Wuhrmann, J.J., Clément, G. (1970). Composition and Nutritive Value of Blue Green Algae (*Spirulina*) and their Possible Use in Food Formulations. 3rd International Congress of Food Science and Technology 1970, Washington, US.
- Chen, J., Wang, Y., Benemann, J.R., Zhang, X., Hu, H., Qin, S. (2016). Microalgal Industry in China: Challenges and Prospects. *Journal of Applied Phycology*, **28**, 715–725.
- Chung, P., Pond, W.G., Kingsbury, J.M., Walker, E.F., Krook, L. (1978). Production and Nutritive Value of *Arthrospira platensis*, a Spiral Blue-Green Alga Grown on Swine Wastes. *Journal of Animal Science*, **47**, 319–330.
- Ciferri, O. (1983). *Spirulina*, the Edible Microorganism. *Microbiological Reviews*, **47**, 551–578.
- Ciferri, O. und Tiboni, O. (1985). The Biochemistry and Industrial Potential of *Spirulina*. *Annual Review of Microbiology*, **39**, 503-526.
- Clément, G. (1975). Production et Constituants Caractéristiques des Algues *Spirulina platensis* et *maxima*. *Annales de la Nutrition et de L'Alimentation*, **29**, 477-487.
- Clément, G., Giddey, C., Menzi, R. (1967). Amino Acid Compositions and Nutritive Value of the Algae *Spirulina maxima*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **18**, 497-501.
- Cohen, Z. (1997). The Chemicals of *Spirulina*. In: Vonshak, A. (Hrsg.). *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology. Taylor and Francis. London, UK, 175-204.
- Colla, L.M., Reinehr, C.O., Reichert, C., Costa, J.A.V. (2007). Production of Biomass and Nutraceutical Compounds by *Spirulina platensis* Under Different Temperature and Nitrogen Regimes. *Bioresource Technology*, **98**, 1489–1493.

- Dänicke, S. und Jeroch, H. (2008). Fütterung des Geflügels. In: Jeroch, H., Drochner, W., Simon, O. (Hrsg.). Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. 2. Auflage. Ulmer Verlag. Stuttgart, Germany, 486-540.
- DBV (2016). Erzeugung und Märkte. Situationsbericht 2016/17. Deutscher Bauernverband (DBV) (Hrsg.). Berlin, Germany, 144-193.
- Devi, M.A., Subbulakshmi, G., Devi, K.M., Venkataraman, L.V. (1981). Studies on the Proteins of Mass-Cultivated, Blue-Green Alga (*Spirulina platensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **29**, 522–525.
- Dixon, W.J. und Massey, F.J.Jr. (1969). Introduction to Statistical Analysis. McGraw-Hill. New York, US.
- DLG (2008). Empfehlungen zur Sauen- und Ferkelfütterung. DLG-Arbeitskreis Futter und Fütterung (Hrsg.). Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG). DLG-Verlag. Frankfurt am Main, Germany.
- D’Mello, J.P.F. und Lewis, D. (1970a). Amino Acid Interaction in Chick Nutrition. 1. Interrelationship between Lysine and Arginine. *British Poultry Science*, **11**, 299-311.
- D’Mello, J.P.F. und Lewis, D. (1970b). Amino Acid Interaction in Chick Nutrition. 2. Interrelationships between Leucine, Isoleucine and Valine. *British Poultry Science*, **11**, 313-323.
- Eder, K. und Roth, F.X. (2014). Geflügelfütterung. In: Stangl, G.I., Schwarz, F.J., Roth, F.X., Südekum, K.-H., Eder, K. (Hrsg.). Kirchgeßner Tierernährung. Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis. 14. aktualisierte Auflage. DLG Verlag. Frankfurt am Main, Germany, 580-625.
- Evans, A.M., Smith, D.L., Moritz, J.S. (2015). Effects of Algae Incorporation into Broiler Starter Diet Formulations on Nutrient Digestibility and 3 to 21 d Bird Performance. *Journal of Applied Poultry Research*, **24**, 206-214.
- Factfish (2016). Geographie und Landwirtschaft. Ernte. Sojabohnen, Ertrag. <http://www.factfish.com/de/statistik-land/t%C3%BCrkei/sojabohnen%2C%20ertrag> (30.04.2018).

- Falquet, J. und Hurni, J.P. (2006). Spiruline Aspects Nutritionales. *Antenna Technologies*, 1-41.
- FAO (2004). Protein Sources for the Animal Feed Industry. Expert Consultation and Workshop, 29 April - 3 May 2002. Food and Agricultural Organization (FAO). Bangkok, Thailand.
- FAO (2008). A Review on Culture, Production and Use of Spirulina as Food for Humans and Feeds for Domestic Animals and Fish. Fisheries and Aquaculture Circular No., 1034. Food and Agriculture Organization (FAO). Rome, Italy.
- FAO (2009). How to Feed the World 2050. Global Agriculture Towards 2050. High Level Expert Forum. Food and Agricultural Organization (FAO). Rome, Italy.
- FAO (2010). Review Paper, Algae-Based Biofuels: Applications and Co-Products. FAO Aquatic Biofuels Working Group (Hrsg.). Food and Agricultural Organization (FAO). Rome, Italy.
- FAO (2013). Edible Insects. Future Prospects for Food and Feed Security. FAO Forestry Paper 171. Food and Agricultural Organization (FAO). Rome, Italy.
- Février, C. und Sève, B. (1976). Essais d'Incorporation de Spiruline (*Spirulina maxima*) dans le Aliments des Porcins. *Annales de la Nutrition et de L'Alimentation*, **29**, 625-630.
- Figuerola, J.L., Lewis, A.J., Miller, P.S., Fischer, R.L., Diedrichsen, R.M. (2003). Growth, Carcass Traits, and Plasma Amino Acid Concentrations of Gilts Fed Low-Protein Diets Supplemented with Amino Acids Including Histidine, Isoleucine, and Valine. *Journal of Animal Science*, **81**, 1529-1537.
- Filali Mouhim, R., Cornet, J.-F., Fontane, T., Fournet, B., Dubertret, G. (1993). Production, Isolation and Preliminary Characterization of the Exopolysaccharide of the Cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Biotechnology Letters*, **15**, 567-572.
- Fischer, R.A., Byerlee, D., Edmeades, G.O. (2014). Crop Yields and Global Food Security. Will Yield Increase Continue to Feed the World? ACIAR Monograph No.158. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra, Australia.
- Forbes, J.M. (2007). Voluntary Food Intake and Diet Selection in Farm Animals. 2. Auflage. CABI Publishing. Wallingford, Oxfordshire, UK.

- Forbes, J.M. und Shariatmadari, F. (1994). Diet Selection for Protein by Poultry. *Worlds Poultry Science Journal*, **50**, 7-24.
- Fuller, M.F. (2004). The Encyclopedia of Farm Animal Nutrition. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Gebhardt, G. (1966). Die Bewertung der Eiweißqualität von Nahrungs- und Futtermitteln mit Hilfe des N-Bilanzversuches. In: Hock, A. (Hrsg.). Vergleichende Ernährungslehre des Menschen und seiner Haustiere. Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany, 323-348.
- Geier, S. und Buchholz, R. (2013). Mikroalgen: Produktionsorganismen der Zukunft? *Marine Biotechnologie. Biospektrum*, **3**, 328-331.
- Geitler, L. (1925). Cyanophyceae. In: Pascher's, A. (Hrsg.). Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Fischer Verlag, Jena, Germany, **12**, 1-450.
- GfE (2008). Recommendations for the Supply of Energy and Nutrients to Pigs. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany, **10**, 48.
- Gongnet, G.P., Niess, E., Rodehutschord, M., Pfeffer, E. (2001). Algae-Meal (*Spirulina platensis*) from Lake Chad Replacing Soybean-Meal in Broiler Diets. *Archiv für Geflügelkunde*, **65**, 265-268.
- Gouveia, L., Batista, A.P., Sousa, I., Raymundo, A., Bandarra, N.M. (2008). Microalgae in Novel Food Products. In: Papadoupoulos, K.N. (Hrsg.). Food Chemistry Research Developments. Nova Science Publishers, New York, US, 75-112.
- Grewe, C.B. und Pulz, O. (2012). The Biotechnology of Cyanobacteria. In: Whitton, B.A. (Hrsg.). Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time. Springer, Dordrecht, Netherlands, 707–739.
- Grinstead, G.S., Tokach, M.D., Dritz, S.S., Goodband, R.D., Nelssen, J.L. (2000). Effects of *Spirulina platensis* on Growth Performance of Weanling Pigs. *Animal Feed Science and Technology*, **83**, 237-247.
- Gruber, F. und Menke, K.H. (1984). Einfluss von Aminosäuren-Zulagen auf die Futteraufnahme und die Proteinverwertung von Ferkeln. 1. Mitteilung: Ergänzung von Mais-Lupinen-Protein mit synthetischen Aminosäuren. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde*, **51**, 214-228.

- Günther, K.D. und Mohme, H. (1977). Untersuchungen zum Aminosäurenansatz beim wachsenden Geflügel. 5th International Symposium on Amino Acids, February 21-26. Budapest, Hungary.
- Henry, Y., Sève, B., Colléaux, Y., Ganier, P., Saligaut, C., Jégo, P. (1992). Interactive Effects of Dietary Levels of Tryptophan and Protein on Voluntary Feed Intake and Growth Performance in Pigs, in Relation to Plasma Free Amino Acids and Hypothalamic Serotonin. *Journal of Animal Science*, **70**, 1873-1887.
- Herrero, M., Ibáñez, E., Senoráns, J., Cifuentes, A. (2004). Pressurized Liquid Extracts from *Spirulina platensis* Microalga: Determination of their Antioxidant Activity and Preliminary Analysis by Micellar Electrokinetic Chromatography. *Journal of Chromatography*, **1047**, 195-203.
- Hoffmann, L., Schiemann, R., Klein, M. (1982). Untersuchungen zum Energiebedarf für den Proteinansatz an wachsenden Ratten und Broilern. 4. Mitteilung: Untersuchung zum Energiebedarf für den Proteinansatz bei Broiler. *Archiv für Tierernährung*, **32**, 513-530.
- Holman, B.W.B. und Malau-Aduli, A.E.O. (2013). Spirulina as a Livestock Supplement and Animal Feed. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **97**, 615-623.
- Houpt, K.A. und Houpt, T.R. (1991). Appetite and Feeding Behavior. In: Miller, E.R., Ullrey, D.E., Lewis, A.J. (Hrsg.). Swine Nutrition. Butterworth-Heinemann. Stoneham, US, 361-372.
- Hu, Q. (2004). Industrial Production of Microalgal Cell-Mass and Secondary Products - Major Industrial Species. *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: Richmond, A. (Hrsg.). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science. Oxford, UK, 264-272.
- Hudson, B.J.F. und Karis, I.G. (1974). The Lipids of the Alga Spirulina. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **25**, 759-763.
- Hugh, W.I., Dominy, W., Duerr, E. (1985). Evaluation of Dehydrate Spirulina (*Spirulina platensis*) as a Protein Replacement in Swine Starter Diets. University of Hawaii Research and Extension Series. Honolulu, US.

- Hultberg, M., Lind, O., Birgersson, G., Asp, H. (2017). Use of the Effluent from Biogas Production for Cultivation of Spirulina. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **40**, 625-631.
- Kamphues, J., Coenen, M., Iben, C., Kienzle, E., Pallauf, J., Simon, O., Wanner, M., Zentek, J. (2009). Supplemente zur Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung. 11. überarbeitete Auflage. Verlag M. und H. Schaper GmbH. Hannover, Germany.
- Kistanova, E., Marchev, Y., Nedeva, R., Kacheva, D., Shumkov, K., Georgiev, B., Shimkus, A. (2009). Effect of the *Spirulina platensis* Included in the Main Diet on the Boar Sperm Quality. *Biotechnology in Animal Husbandry*, **25**, 547-557.
- Kluth, H. und Rodehutschord, M. (2006). Comparison of Amino Acid Digestibility in Broiler Chickens, Turkeys and Pekin Ducks. *Poultry Science*, **85**, 1953-1960.
- Kovač, D., Simeunovič J., Babič O., Misan A., Milovanovič I. (2013). Algae in Food and Feed. *Food and Feed Research*, **40**, 21-31.
- Kovács, M., Tuboly, T., Mézes, M., Balogh, K., Gerencsér, Z., Matics, Z., Dal Bosco, A., Szendrő, Z., Tornyos, G., Hafner, D., Milisits, G., Balogh-Zándoki, E., Zotte, A.D. (2016). Effect of Dietary Supplementation of Spirulina (*Arthrospira platensis*) and Thyme (*Thymus vulgaris*) on Serum Biochemistry, Immune Response and Antioxidant Status of Rabbits. *Annals of Animal Science*, **16**, 181-195.
- Kulphys, J., Paulauskas, E., Pilipavičius, V., Stankevičius, R. (2009). Influence of Cyanobacteria *Arthrospira (Spirulina) platensis* Biomass Additive Towards the Body Condition of Lactation Cows and Biochemical Milk Indexes. *Agronomy Research*, **7**, 823-835.
- Laurens, L.M.L., Dempster, T.A., Jones, H.D.T., Wolfrum, E.J., Van Wychen, S., McAllister, J.S.P., Rencenberger, M., Parchert, K.J., Gloe, L.M. (2012). Algal Biomass Constituent Analysis: Method Uncertainties and Investigation of the Underlying Measuring Chemistries. *Analytical Chemistry*, **84**, 1879-1887.
- Ledl, F. und Schleicher, E. (1990). Die Maillard-Reaktion in Lebensmitteln und im menschlichen Körper - neue Ergebnisse zu Chemie, Biochemie und Medizin. *Angewandte Chemie*, **6**, 597-734.

- Liebert, F. (2008). Modelling of Protein Metabolism Yields Amino Acid Requirements Dependent on Dietary Amino Acid Efficiency, Growth Response, Genotype and Age of Growing Chicken. *Avian Biology Research*, **1**, 101–110.
- Liebert, F. (2015). Basics and Applications of an Exponential Nitrogen Utilization Model (“Goettingen Approach”) for Assessing Amino Acid Requirements in Growing Pigs and Meat Type Chickens Based on Dietary Amino Acid Efficiency. In: Sakomura, N.K., Gous, R., Kyriazakis, I., Hauschild, L. (Hrsg.). *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry*. CABI Publishing. Wallingford, Oxfordshire, UK, 73-87.
- Liebert, F. (2017). Invited Review: Further Progress is Needed in Procedures for the Biological Evaluation of Dietary Protein Quality in Pig and Poultry Feeds. *Archives Animal Breeding*, **60**, 259-270.
- LNW (2014). *Rechenmeister für die Schweinefütterung*. Neuauflage 2014. Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen (Hrsg.). Germany.
- Lognone, V. (2003). Algen in der Tierernährung. *Lohmann Information*, **3**, 1-4.
- Lourenço, S.O., Barbarino, E., Lavín, P.L., Marquez, U.M.L., Aidar, E. (2004). Distribution of Intracellular Nitrogen in Marine Microalgae: Calculation of New Nitrogen-to-Protein Conversion Factors. *European Journal of Phycology*, **39**, 17-32.
- Lu, Y.M., Xiang, W.Z., Wen, Y.H. (2011). Spirulina (Arthrospira) Industry in Inner Mongolia of China: Current Status and Prospects. *Journal of Applied Phycology*, **23**, 265–269.
- Lum, K.K., Kim, J., Lei, X.G. (2013). Dual Potential of Microalgae as a Sustainable Biofuel Feedstock and Animal Feed. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, **4**, 53.
- Martinavičius, V. (2008). Influence of Blue-Green Algae on Pigs Physiological Processes and Productivity. Summary of Doctoral Dissertation Biomedical Sciences, Zootechny. Lithuanian Veterinary Academy. Kaunas, Lithuania.
- Maurus, E.M., Kirchgeßner, M., Roth, F.X. (1988). Körperzusammensetzung und Nährstoffansatz von männlichen Broilern bei unterschiedlicher Protein- und Energieversorgung in der verlängerten Mast. *Archiv für Geflügelkunde*, **52**, 79-86.

- Mohanty, P., Scrivastava, M., Kirsha, K.B. (1997). The Photosynthetic Apparatus of *Spirulina*: Electron Transport and Energy Transfer. In: Vonshak, A. (Hrsg.). *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology. Taylor and Francis. London, UK, 17-42.
- Moughan, P.J. (1993). Animal Factors Affecting Protein Utilisation in the Pig. In: Verstegen, M.W.A., Den Hartog, L.A., Van Kempen, G.J.M., Metz, J.H.M. (Hrsg.). Nitrogen Flow in Pig Production and Environmental Consequences. Pudoc Scientific Publishers. Wageningen, Netherlands, 39-48.
- Müller, R. und Hötzel, D. (1957). Zur Frage des Vergleichs von Ratte und Schwein bei der Proteinbewertung. *Archiv für Tierernährung*, **7**, 233-243.
- Nagaoka, S., Shimizu, K., Kaneko, H., Shibayama, F., Morikawa, K., Kanamaru, Y., Otsuka, A., Hirahashi, T., Kato, T. (2005). A Novel Protein C-Phycocyanin Plays a Crucial Role in the Hypocholesterolemic Action of *Spirulina platensis* Concentrate in Rats. *The Journal of Nutrition*, **135**, 2425–2430.
- Narasimha, D.L.R., Venkataraman, G.S., Duggal, S.K., Eggum, B.O. (1982). Nutritional Quality of the Blue-Green Alga *Spirulina platensis* Geitler. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **33**, 456–460.
- Naumann, C. und Bassler, R. (1976-2004). Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch, Volume III. VDLUFA-Verlag. Darmstadt, Germany.
- Nedeva, R., Jordanova, G., Kistanova, E., Shumkov, K., Georgiev, B., Abadgieva, D., Kacheva, D., Shimkus, A., Shimkine, A. (2014). Effect of the Addition of *Spirulina platensis* on the Productivity and Some Blood Parameters on Growing Pigs. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, **20**, 680-684.
- Nesheim, M.C., Austic, R.E., Wang, S. (1972). Amino Acids in Avian Nutrition. 4. Dietary Factors Influencing Amino Acid Degradation. *Poultry Science*, **51**, 28-35.
- Neumann, F.J. und Kirchgeßner, M. (1984). Zum Einfluss einer unterschiedlichen Energie- und Rohproteinversorgung auf die Umsetzbarkeit der Futterenergie bei Legehennen. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde*, **51**, 106-111.

- Neumann, C., Velten, S., Hanuszewska, M., Schäfer, J., Liebert, F. (2017). Influence of Insect or Algae Meal in Broiler Diets on Growth Performance, Intestinal Microbiota and Intestinal Microstructure of Meat-Type Chicken. In: Zeyner, A., Kluth, H., Bulang, M., Bochnia, M., Bachmann, M. (Hrsg.). Tagungsband, 14. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Lutherstadt Wittenberg, Germany, 30-33.
- Niess, E. (1978). Ursachen und Folgen von Aminosäureninbalanzen beim monogastrischen Nutztier. *Kraftfutter*, **61**, 686-690.
- NRC (2012). Nutrient Requirements of Swine. Committee on Nutrient Requirements of Swine. Board on Agriculture and Natural Resources. Division on Earth and Life Study. National Research Council (NRC). The National Academies Press. Washington, D.C., US.
- Pascaud, M. (1993). The Essential Polyunsaturated Fatty Acids of Spirulina and our Immune Response. *Bulletin de L'Institut Oceanographique*, **12**, 49-57.
- Pastor, A. (2014). Studien zur Aminosäurenwirksamkeit beim Mastgeflügel unter spezifischer Betrachtung der verzweigt-kettigen Aminosäuren. Ph.D. Dissertation, Tierernährungsphysiologie, Georg-August-Universität Göttingen. Göttingen, Germany.
- Qiyu, D. (1998). Untersuchungen zur leistungsgerechten Proteinversorgung durch den Einsatz synthetischer Futteraminosäuren in der Broilermast. Ph.D. Dissertation, Tierernährungsphysiologie und Tierernährung, Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen, Germany.
- Raach-Moujahed, A., Hassani, S., Zairi, S., Bouallegue, M., Darej, C., Haddad, B., Damergi, C. (2011). Effect of Dehydrated *Spirulina platensis* on Performances and Meat Quality of Broilers. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, **1**, 505-509.
- Rajasha, J., Madhusudhan, B., Mahadeva Swamy, M., Rao, R.J., Ravishankar, G.A., Kuarunakumar, M. (2011). Flaxseed and Spirulina in Designer Eggs: A Potent Blended Functional Food and a Smart Food Choice. In: Martirosyan, D.M. (Hrsg.). Functional Foods in Health and Disease. Food Science Publisher. Richardson (Dallas), Texas, 124-139.

- Ravindran, V., Hew, L.I., Ravindran, G., Bryden, W.L. (1999). A Comparison of Ileal Digesta and Excreta Analysis for the Determination of Amino Acid Digestibility in Food Ingredients for Poultry. *British Poultry Science*, **40**, 266-274.
- Richmond, A. (1988). Spirulina. In: Borowitzka, M.A. und Borowitzka, L.J. (Hrsg.). *Microalgal Biotechnology*. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 85-121.
- Rodehutschord, M., Kapocius, M., Timmler, R., Dieckmann, A. (2004). Linear Regression Approach to Study Amino Acid Digestibility in Broiler Chickens. *British Poultry Science*, **45**, 85-92.
- Romay, C., Armestro, J., Ramirez, D., González, R., Ledon, N., Garcia, I. (1998). Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of C-Phycocyanin from Blue-Green Algae. *Inflammation Research*, **47**, 36-41.
- Ross, E. und Dominy, W. (1990). The Nutritional Value of Dehydrated, Blue-Green Algae (*Spirulina platensis*) for Poultry. *Poultry Science*, **69**, 794-800.
- Saeid, A., Chojnacka, K., Korczynski, Korniewicz, D., M., Dobrzanski, Z. (2013). Effect on Supplementation of *Spirulina maxima* Enriched with Cu on Production Performance, Metabolical and Physiological Parameters in Fattening Pigs. *Journal of Applied Phycology*, **25**, 1607-1617.
- Samadi und Liebert, F. (2007a). Lysine Requirement of Fast Growing Chickens - Effects of Age, Sex, Level of Protein Deposition and Dietary Lysine Efficiency. *The Journal of Poultry Science*, **44**, 63-72.
- Samadi und Liebert, F. (2007b). Threonine Requirement of Slow - Growing Male Chickens Depends on Age and Dietary Efficiency of Threonine Utilization. *Poultry Science*, **86**, 1140-1148.
- Santillan, C. (1974). Cultivation of Spirulina for Human Consumption and for Animal Feed. International Congress of Food Science and Technology, September 1974. Madrid, Spain.
- Saxena, P.N., Ahmad, M.R., Shyam, R., Amla, D.V. (1983). Cultivation of Spirulina in Sewage for Poultry Feed. *Experientia*, **39**, 1077-1083.

- Schulz, R. (2017). Mikroalgen-Aquakultur. Eine potentielle Nutzungsform für die Ostsee. Werkstatt Wissenschaft Wirtschaft - „Praxis der Biomassennutzung“. Kiel, 29.05.2017. Kiel, Germany.
- Shanmugapriya, B., Saravana Babu, S., Hariharan, T., Sivaneswaran, S., Anusha, M.B. (2015). Dietary Administration of *Spirulina platensis* as Probiotics on Growth Performance and Histopathology in Broiler Chicks. *International Journal of Recent Scientific Research*, **6**, 2650-2653.
- Shekharam, K.M., Venkataraman, L.V., Salimath, P.V. (1987). Carbohydrate Composition and Characterization of Two Unusual Sugars from the Blue Green Alga *Spirulina platensis*. *Phytochemistry*, **26**, 2267-2269.
- Shields, R.J., und Lupatsch I. (2012). Algae for Aquaculture and Animal Feeds. *Technikfolgeschätzung - Theorie und Praxis*, **1**, 23-37.
- Shimamatsu, H. (2004). Mass Production of Spirulina, an Edible Microalga. *Hydrobiologia*, **512**, 39–44.
- Sili, C., Torzillo, G., Vonshak, A. (2012). Arthrospira (Spirulina). In: Whitton, B.A. und Potts, M. (Hrsg.). *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*. Springer. Dordrecht, Netherlands, 677–705.
- Šimkus, A., Oberauskas, V., Laugalis, J., Zelvyte, R., Monkevičienė, I., Sedervičius, A., Šimkienė, A., Pauliukas, K. (2007). The Effect of Weed *Spirulina platensis* on the Milk Production in Cows. *Veterinarija ir Zootechnika*, **38**, 74-77.
- Šimkus, A., Oberauskas, V., Zelvyte, R., Monkevičienė, I., Laugalis, J., Sedervičius, A., Šimkienė, A., Juozaitienė, V., Juozaitis, A., Bartkeviciute, Z. (2008). The Effect of the Microalga *Spirulina platensis* on Milk Production and Some Microbiological and Biochemical Parameters in Dairy Cows. *Zhivotnov'dni Nauki*, **45**, 42–49.
- Šimkus, A., Šimkienė, A., Černauskienė, J., Kvietkutė, N., Černauskas, A., Paleckaitis, M., Kerzienė, S. (2013). The Effect of Blue Algae *Spirulina Platensis* on Pig Growth Performance and Carcass and Meat Quality. *Veterinarija ir Zootechnika*, **61**, 70–74.
- Smith, R. und Barnes, E. (2015). Determining the Contribution That Insects can Make to Addressing the Protein Deficit in Europe. PROTeINSECT Consensus Business Case Report. Minerva Health and Care Communications Ltd, May 2015.

- Soeder, C.J. (1979). Verschiedene Single Cell Protein-Typen und ihre biochemischen Eigenschaften. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **81**, 352-357.
- Sommer, W. (2004). Sojaschrot durch Lysin ersetzen? Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen (Hrsg.)
<https://www.landwirtschaftskammer.de/landwirtschaft/tierproduktion/schweinehaltung/fuetterung/sojaschrot-lysin.htm>, (20.08.2018).
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A. (2006). Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **101**, 87-96.
- Stangl, G.I. (2010). Das Zusammenspiel zwischen Proteinaufbau- und -abbau – Neue Erkenntnisse zum Proteinturnover. *Übersichten Tierernährung*, **38**, 1-32.
- Stangl, G.I. (2014a). Die Nährstoffe und ihr Stoffwechsel. In: Stangl, G.I., Schwarz, F.J., Roth, F.X., Südekum, K.-H., Eder, K. (Hrsg.). *Kirchgeßner Tierernährung. Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis*. 14. aktualisierte Auflage. DLG Verlag. Frankfurt am Main, Germany, 47-134.
- Stangl, G.I. (2014b). Zusammensetzung von Nahrung und Tier. In: Stangl, G., Schwarz, F.J., Roth, F.X., Südekum, K.-H., Eder, K. (Hrsg.). *Kirchgeßner Tierernährung. Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis*. 14. aktualisierte Auflage. DLG Verlag. Frankfurt am Main, Germany, 20-26.
- Stockinger, B. und Schätzl, R. (2012). Können wir uns selbst mit Eiweißfuttermitteln versorgen? Proteinmarkt Fachartikel.
https://www.proteinmarkt.de/fileadmin/user_upload/Fachartikel/Fachartikel_Eiwei%C3%9Fversorgung-WEB.pdf, (04.07.2016).
- Sünder, A., Wecke, C., Liebert, F. (2015a). Influence of Different Dietary Methionine to Cystine Ratios on Growth Performance, Feed Efficiency and Protein Deposition in Meat Type Chicken. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*. DLG-Verlag. Frankfurt am Main, Germany, **24**, 47.

- Sünder, A., Wecke, C., Liebert, F. (2015b). Einfluss des Methionin:Cystin-Verhältnisses im Futter auf abgeleitete Methioninbedarfswerte bei Masthähnchen. In: Zeyner, A., Kluth, H., Bulang, M., Bochnia, M., Glatter, M. (Hrsg.). Tagungsband, 13. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Lutherstadt Wittenberg, Germany, 43-45.
- Sujatha, T. und Narahari, D. (2011). Effect of Designer Diets on Egg Yolk Composition of White Leghorn Hens. *Journal of Food Science and Technology*, **48**, 494-497.
- Taelman, S.E., De Meester, S., Van Dijk, W., Da Silva, V., Dewulf, J. (2015). Environmental Sustainability Analysis of a Protein-Rich Livestock Feed Ingredient in the Netherlands: Microalgae Production Versus Soybean Import. *Resources, Conservation and Recycling*, **101**, 61–72.
- Tasaki, I. und Takahashi, N. (1966). Absorption of Amino Acids from the Small Intestine of the Domestic Fowl. *Journal of Nutrition*, **88**, 359-364.
- Thomke, S., Alaviuhkola, T., Madsen, A., Sundstol, F., Mortensén, H.P., Vangen, O., Andersson, K. (1995). Dietary Energy and Protein for Growing Pigs: 2. Protein- and Fat Accretion and Organ Weights of Animal Slaughtered at 20, 50, 80 and 110 kg Live Weight. Acta Agriculturae Scandinavia Section. *Animal Science*, **45**, 54-63.
- Thong, H.T. und Liebert, F. (2004). Potential for Protein Deposition and Threonine Requirement of Modern Genotype Barrows Fed Graded Levels of Protein with Threonine as Limiting Amino Acid. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **88**, 196-203.
- Tibbetts, S.M., Milley, J.E., Lall, S.P. (2015a). Chemical Composition and Nutritional Properties of Freshwater and Marine Microalgal Biomass Cultured in Photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*, **27**, 1109-1119.
- Tibbetts, S.M., Whitney, C.G., MacPherson, M.J., Bhatti, S., Banskota, A.H., Stefanova, R., McGinn, P.J. (2015b). Biochemical Characterization of Microalgal Biomass from Freshwater Species Isolated in Alberta, Canada for Animal Feed Applications. *Algal Research*, **11**, 435-447.

- Tokuşoglu, Ö. und Ünal, M.K. (2003). Biomass Nutrient Profiles of Three Microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Isochrysis galbana*. *Journal of Food Science*, **68**, 1144-1148.
- Toyomizu, M., Sato, K., Taroda, H., Kato, T., Akiba, Y. (2001). Effects of Dietary Spirulina on Meat Color in Muscle of Broiler Chickens. *British Poultry Science*, **42**, 197-202.
- Van Eykelenburg, C. (1979). The Ultrastructure of *Spirulina platensis* in Relation to Temperature and Light Intensity. *Antonie van Leeuwenhoek*, **25**, 369-390.
- Veldkamp, T. und Bosch, G. (2015). Insects: A Protein-Rich Feed Ingredient in Pig and Poultry Diets. *Animal Frontiers*, **5**, 45-50.
- Velten, S., Neumann, C., Bleyer, M., Gruber-Dujardin, E., Hanuszewska, M., Przybylska-Gornowicz, B., Liebert, F. (2018a). Effects of 50 Percent Substitution of Soybean Meal by Alternative Proteins from *Hermetia illucens* or *Spirulina platensis* in Meat-Type Chicken Diets with Graded Amino Acid Supply. *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 119-136.
- Velten, S., Neumann, C., Schäfer, J., Liebert, F. (2018b). Effects of the Partial Replacement of Soybean Meal by Insect or Algae Meal in Chicken Diets with Graded Amino Acid Supply on Parameters of gut Microbiology and Dietary Protein Quality. *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 259-279.
- Venkataraman, L.V., Somasekaran, T., Becker, E.W. (1994). Replacement Value of Blue-Green Alga (*Spirulina platensis*) for Fishmeal and Vitamin-Mineral Premix for Broiler Chicks. *British Poultry Science*, **35**, 373-381.
- Voreck, O. und Kirchgeßner, M. (1980). Zum Einfluss unterschiedlicher Energie- und Proteiversorgung auf die Proteinverwertung bei der Legehennen. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde*, **43**, 230-240.
- Wecke, C. und Liebert, F. (2009). Lysine Requirement Studies in Modern Genotype Barrows Dependent on Age, Protein Deposition and Dietary Lysine Efficiency. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **93**, 295-304.
- Wecke, C. und Liebert, F. (2010). Optimal Dietary Lysine to Threonine Ratio in Pigs (30-110 kg BW) Derived from Observed Dietary Amino Acid Efficiency. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **94**, 277-285.

- Wecke, C. und Liebert, F. (2013). Improving the Reliability of Optimal In-Feed Amino Acid Ratios Based on Individual Amino Acid Efficiency Data from N Balance Studies in Growing Chicken. *Animals*, **3**, 558-573.
- Wecke, C., Sünder, A., Liebert, F. (2015). Effect of Dietary Methionine to Cystine Ratios on Methionine Efficiency in Growing Meat Type Chicken. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*. DLG-Verlag. Frankfurt am Main, Germany, **24**, 164.
- Wecke, C., Pastor, A., Liebert, F. (2016). Validation of the Lysine Requirement as Reference Amino Acid for Ideal In-Feed Amino Acid Ratios in Modern Fast Growing Meat-Type Chickens. *Open Journal of Animal Science*, **6**, 185-194.
- Wesseling, B. (2003). Zur Wirksamkeit von Futteramino säuren beim Schwein. Ph.D. Dissertation, Tierernährungsphysiologie, Georg-August-Universität Göttingen. Göttingen, Germany.
- Westendarp, H. (1999). Zum Einfluss des Fütterungsregimes von Mastschweinen auf Leistung, Schlachtkörper- und Ansatzparameter. Ph.D. Dissertation, Tierernährungsphysiologie, Georg-August-Universität Göttingen. Göttingen, Germany.
- WPSA (1984). The Prediction of Apparent Metabolizable Energy Values for Poultry in Compound Feeds. *World's Poultry Science Journal*, **40**, 181-182.
- Yap, T.N., Wu, J.F., Pond, W.G., Krook, L. (1982). Feasibility of Feeding *Spirulina maxima* *Arthrospira platensis* or *Chlorella sp.* to Pigs Weaned to a Dry Diet at 4 to 8 Days of Age. *Nutritional Reports International*, **25**, 543-552.
- Yoshida, M. und Hoshii, H. (1980). Nutritive Value of Spirulina, Green Algae, for Poultry Feed. *Japanese Poultry Science*, **17**, 27–30.

10 Wissenschaftliche Publikationen und Beiträge zu wissenschaftlichen Tagungen

Journalbeiträge

Altmann, B.A., Neumann, C., Velten, S., Liebert, F., Mörlein, D. (2018). Meat Quality from High Inclusion of a Micro-Alga or Insect Meal as an Alternative Protein Source in Poultry Diets: A Pilot Study. *Foods*, **7**, 1-15.

Altmann, B.A., Neumann, C., Velten, S., Liebert, F., Mörlein, D. (2018). Do Dietary Soy Alternatives Lead to Pork Quality Improvements or Drawbacks? A Look into Micro-Alga and Insect Protein in Swine Diets. *Prepared for Submission*.

Gruber-Dujardin, E., Velten, S., Neumann, C., Bleyer, M., Liebert, F. (2018). Insects (*Hermetia illucens*) and Microalgae (*Spirulina platensis*) as Alternative Protein Sources in Broiler Feeding: Responses on Small Intestinal Mucosal Surface and Epithelial Composition. *Prepared for Submission*.

Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2018). Improving the Dietary Protein Quality by Amino Acid Fortification with a High Inclusion Level of Micro Algae (*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) in Meat Type Chicken Diets. *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 12-26.

Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2018). The Graded Inclusion of Algae (*Spirulina platensis*) or Insect (*Hermetia illucens*) Meal as a Soybean Meal Substitute in Meat Type Chicken Diets Impacts Growth, Nutrient Deposition and Dietary Protein Quality Depending on the Extent of Amino Acid Supplementation. *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 163-183.

Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2018). N Balance Studies Emphasize the Superior Protein Quality of Diets for Piglets and Growing Pigs at High Inclusion Level of Algae Meal (*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) when Adequate Amino Acid Supplementation is Ensured. *Prepared for Submission*.

Velten, S., Neumann, C., Schäfer, J., Liebert, F. (2018). Effects of the Partial Replacement of Soybean Meal by Insect or Algae Meal in Chicken Diets with Graded Amino Acid Supply on Parameters of gut Microbiology and Dietary Protein Quality. *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 259-279.

Velten, S., Neumann, C., Bleyer, M., Gruber-Dujardin, E., Hanuszewska, M., Przybylska-Gornowicz, B., Liebert, F. (2018). Effects of 50 Percent Substitution of Soybean Meal by Alternative Proteins from *Hermetia illucens* or *Spirulina platensis* in Meat-Type Chicken Diets with Graded Amino Acid Supply. *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 119-136.

Tagungsbeiträge

Altmann, B.A., Neumann, C., Velten, S., Liebert, F., Mörlein, D. (2018). Alga and Insect Meal and their Effect on Monogastric Animal Meat Quality. Global Food Security and Food Safety: The Role of Universities. Tropentag, September 17-19. Ghent, Belgium.

Altmann, B., Grahl, S., Neumann, C., Palanisamy, M., Smetana, S., Velten, S. (2017). Die Eignung von *Hermetia illucens* und *Spirulina* in der Tier- und Humanernährung und deren Relevanz für die Nachhaltigkeit. Statussymposium, Wissenschaft für Nachhaltige Entwicklung. Programm und Abstracts, 83.

https://www.volkswagenstiftung.de/sites/default/files/downloads/Booklet_Statussymposium_Nachhaltigkeit_web.pdf, (06.08.2018).

Altmann, B., Velten, S., Neumann, C., Liebert, F., Mörlein, D. (2016). The Potential Meat Quality Optimization Through the use of Alternative Protein-Feed Sources. INSECTA. Magdeburg, Germany.

Brede, A., Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2016). Evaluation of *Hermetia illucens* and *Spirulina platensis* Proteins in Semi-Synthetic Diets for the Laboratory Rat. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany, **25**, 31.

Gruber-Dujardin, E., Velten, S., Neumann, C. und Liebert, F. (2018). Effects of a Partly Defatted Insect Meal (*Hermetia illucens*) or Micro Algae (*Spirulina platensis*) in Mixed Diets on Intestinal Mucosal Surface and Mucin Secretion of Meat Type Chicken. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany, **27**, 155.

Liebert, F., Neumann, C., Velten, S., Sünder, A. (2017). Potenziale und Grenzen alternativer Proteinträger aus Insekten und Mikroalgen in der Masthähnchen- und Schweineernährung. In: Zeyner, A., Kluth, H., Bulang, M., Bochnia, M., Bachmann, M. (Hrsg.). Tagungsband, 14. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Lutherstadt Wittenberg, Germany, 10-21.

Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2018). Ernährungsphysiologische Bewertung von *Hermetia illucens* und *Spirulina platensis* für den Einsatz in nachhaltig ressourcenschonenden Ernährungskonzepten der Schweine- und Hähnchenmast. Gesamtworkshop „Sustainability Transitions in der Lebensmittelproduktion: Alternative Proteinquellen in soziotechnischer Perspektive“, 22. 06. 2018. Osnabrück, Germany.

Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2018). Protein Quality of Piglet Diets with a High Inclusion Level of Algae Meal (*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) by Graded Fortification of Dietary Amino Acid Supply. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany, **27**, 57.

Neumann, C., Velten, S., Deike, K., Liebert, F. (2017). Protein Quality of Chicken Diets with Complete Substitution of Soybean Meal by Insect Meal (*Hermetia illucens*) or Algae Meal (*Spirulina platensis*) and Graded Fortification of Dietary Amino Acid Supply. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany, **26**, 79.

Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2017). Ergebnisse zum Einsatz von Insekten- oder Algenmehl bei teilweiser Substitution von Sojaextraktionsschrot in der Broilermast. Standortgerechte Landnutzung - umweltverträglich und wirtschaftlich. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (Hrsg.). Kurzfassungsband, 129. VDLUFA-Kongress. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany, 116.

Neumann, C., Velten, S., Liebert, F. (2017). Ergebnisse zum Einsatz von Insekten- oder Algenmehl bei teilweiser Substitution von Sojaextraktionsschrot in der Broilermast. Standortgerechte Landnutzung - umweltverträglich und wirtschaftlich. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (Hrsg.). Langfassungsband, 129. VDLUFA-Kongress. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany, **74**, 527-533.

Neumann, C., Velten, S., Hanuszewska, M., Schäfer, J., Liebert, F. (2017). Influence of Insect or Algae Meal in Broiler Diets on Growth Performance, Intestinal Microbiota and Intestinal Microstructure of Meat-Type Chicken. In: Zeyner, A., Kluth, H., Bulang, M., Bochnia, M., Bachmann, M. (Hrsg.). Tagungsband, 14. Tagung Schweine- und Geflügelernährung. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Lutherstadt Wittenberg, Germany, 30-33.

Velten, S., Neumann, C., Liebert, F. (2018). Response of Piglets and Fattening Pigs to Amino Acid Optimization of Mixed Diets with 50% Replacement of Soybean-Meal by Partly Defatted Insect Meal (*Hermetia illucens*) or Meal From Micro Algae (*Spirulina platensis*). Proceedings of the Society of Nutrition Physiology. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany, **27**, 55.

Velten, S., Neumann, C., Liebert, F. (2018). Effects of a Complete Substitution of Soybean Meal by Insect Meal (*Hermetia illucens*) in Meat-Type Chicken Diets. 4th INSECTA Conference, 5th – 7th September 2018. Gießen, Germany.

Velten, S., Neumann, C., Liebert, F. (2018). Influence of Insect (*Hermetia illucens*) or Algae Meal (*Spirulina platensis*) in Broiler Diets on Growth Performance, Precaecal Digestibility and Intestinal Microbiota of Meat Type Chickens. 15th European Poultry Conference, 17th – 21th September 2018. Dubrovnik, Croatia.

Velten, S., Gruber-Dujardin, E., Neumann, C., Liebert, F. (2017). Gastro Intestinal Effects of Partly Defatted Insect Meal (*Hermetia illucens*) and Micro Algae Meal (*Spirulina platensis*) as Substitute for Soybean Meal in Mixed Diets for Meat Type Chicken. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany, **26**, 88.

Velten, S., Neumann, C., Dörper, A., Liebert, F. (2017). Response of Piglets due to Amino Acid Optimization of Mixed Diets with 75% Replacement of Soybean-Meal by Partly Defatted Insect Meal (*Hermetia illucens*). INSECTA Conference. Book of Abstract, Bornimer Agrartechnische Berichte, Potsdam-Bornim, **97**, 63-64.

Velten, S., Neumann, C., Liebert, F. (2017). Proteinqualität von Broilerfutter bei vollständiger Substitution von Sojaextraktionsschrot durch teilentfettetes Insektenmehl (*Hermetia illucens*) bei differenziertem Aminosäurenangebot. Standortgerechte Landnutzung - umweltverträglich und wirtschaftlich. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (Hrsg.). Kurzfassungsband, 129. VDLUFA-Kongress. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany, 117.

Velten, S., Neumann, C., Liebert, F. (2017). Proteinqualität von Broilerfutter bei vollständiger Substitution von Sojaextraktionsschrot durch teilentfettetes Insektenmehl (*Hermetia illucens*) bei differenziertem Aminosäurenangebot. Standortgerechte Landnutzung - umweltverträglich und wirtschaftlich. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und

Forschungsanstalten (Hrsg.). Langfassungsband, 129. VDLUFA-Kongress. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany, **74**, 534-541.

Velten, S., Neumann, C., Mast, J., Liebert, F. (2017). Response of Meat Type Chickens due to Amino Acid Optimization of Mixed Diets with 50% Replacement of Soybean-Meal by Partly Defatted Insect Meal (*Hermetia illucens*) or Meal from Micro Algae (*Spirulina platensis*). Proceedings of the Society of Nutrition Physiology. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany, **26**, 89.

Velten, S., Neumann, C., Mast, J., Gruber-Dujardin, E., Liebert, F. (2017). Einfluss von Insekten- (*Hermetia illucens*) und Mikroalgenmehl (*Spirulina platensis*) als alternative Proteinquellen auf Wachstumsparameter und Schleimhautoberfläche des Dünndarms von Absatzferkeln In: Zeyner, A., Kluth, H., Bulang, M., Bochnia, M., Bachmann, M. (Hrsg.). Tagungsband, 14. Tagung Schweine- und Geflügelernährung. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Lutherstadt Wittenberg, Germany, 27-29.

Velten, S., Neumann, C. und Liebert, F. (2016). Poster 2.9 Evaluation of Partly Defatted Insect Meal from *Hermetia illucens* as a Substitute for Soybean Meal in Broiler Chicken Diets. INSECTA, Magdeburg, Germany.

Fachartikel

Neumann, C. und Liebert, F. (2018). *Spirulina platensis* – eine Mikroalge als alternative Proteinquelle in der Schweine- und Geflügelmast. Veredlungsproduktion. Fachartikel, Proteinmarkt.

<https://www.proteinmarkt.de/fachartikel/kw29-spirulina-platensis-eine-mikroalge-als-alternative-proteinquelle-in-der-schweine-und-gefluegelernaehrung/>, (18.07.2018).

11 Lebenslauf

Persönliche Daten

Carmen Friederike Neumann

Geburtsdatum: 17.09.1989
Geburtsort: Tübingen
Staatsangehörigkeit: deutsch

Praktische Erfahrung

- 04/2015 – 08/2018 **Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Tierernährung**
Georg-August-Universität Göttingen
DNTW-Tierernährungsphysiologie
D-37077 Göttingen/Deutschland
- 09/2015 **Landwirtschaftliche Praktikantenprüfung**
abgenommen durch den Prüfungsausschuss des
Regierungspräsidiums Stuttgart
- 05/2014 – 09/2014 **Landwirtschaftliches Praktikum - Legehennenbetrieb**
Hofgut Martinsberg
D-72108 Rottenburg/Deutschland
- 02/2012 – 03/2012 **Landwirtschaftliches Praktikum - Milchviehbetrieb**
07/2012 – 11/2012 Christoph Fehrenbach
D-78148 Gütenbach/Deutschland
- 07/2011 – 09/2011 **Praktikum - Regierungspräsidium Tübingen**
Abteilung: Landwirtschaft, Ländlicher Raum, Veterinär-
und Lebensmittelwesen, Referate 31 - 35
D-72072 Tübingen/Deutschland
- 08/2010 – 09/2010 **Landwirtschaftliches Praktikum – Schweinezucht &
Schweinemastbetrieb**
Johannes Rips
D-47647 Kerken/Deutschland

Studium

04/2015 – 08/2018

PhD

Georg-August-Universität

D - 37077 Göttingen/Deutschland

Promotionsstudiengang Agrarwissenschaften

- Dissertation: „Ernährungsphysiologische Bewertung von *Spirulina platensis* für den Einsatz in nachhaltig ressourcenschonenden Ernährungskonzepten der Schweine- und Hähnchenmast“

04/2012 – 08/2014

Master of Science (Dipl.-Ing.)

Universität für Bodenkultur Wien

A-1180 Wien/Österreich

Masterstudiengang Nutztierwissenschaften

- Masterarbeit: „Einfluss des Lysingehaltes im Futter auf die Qualität von Entenfleisch“

10/2012 – 02/2013

Erasmus-Semester

Universität Hohenheim

D-70599 Hohenheim/Deutschland

11/2009 – 04/2012

Bachelor of Science (B.Sc.)

Universität für Bodenkultur Wien

A-1180 Wien/Österreich

Bachelorstudiengang Agrarwissenschaften

- Bachelorarbeit: „Low-Input Vollweidehaltung als ökonomische Alternative zur Mähwirtschaft in der Milchviehhaltung“

Schulausbildung

09/2006 – 07/2009

Allgemeine Hochschulreife

Agrarwissenschaftliches Gymnasium

D-72622 Nürtingen/Deutschland

09/2000 – 07/2006

Mittlere Reife

Realschule im Kreuzerfeld

D-72108 Rottenburg/Deutschland

09/1996 – 07/2000

Grundschule

Grundschule Dettingen-Hemmendorf

D-72108 Rottenburg/Deutschland

12 Tabellenanhang

Tabellenanhang 1: Versuchsdiäten Broiler Wachstumsversuch 1

Komponenten	Starter-Mischungen 50 % SES-Austausch			Grower-Mischungen 50 % SES-Austausch		
	K	SM+	SM +AS	K	SM+	SM +AS
Inhaltsstoffe (g/kg wie gefüttert)						
Weizen	328,8	381,5	377,9	375,8	419,1	416,8
Mais	164,4	190,7	189	187,9	209,6	208,4
Sojaschrot	390	195	195	320	160	160
Algenmehl	-	118,2	118,2	-	97	97
Sojaöl	78,5	78,5	78,5	78,5	78,5	78,5
Premix*	10	10	10	10	10	10
Calciumcarbonat	11	9,1	9,1	9	8	8
DCP 40	11	12	12	10	10	10
Natriumchlorid	3	1,7	1,7	3	2	2
Weizenstärke/TiO ₂	-	-	-	3	3	3
L-Lysin·HCl	1,3	1,3	4,4	0,8	0,8	3,5
DL-Methionin	2	2	3,5	2	2	2,5
L-Arginin	-	-	0,7	-	-	0,1
L-Valin	-	-	-	-	-	0,2
Analysierte Nährstoffgehalte (g/kg TS)						
XP	249,5	236,4	241,4	220,2	207,4	207,2
XL	111,6	115,7	116,6	112,8	117,4	118,4
XF	45,2	33,4	31,1	40,4	28,5	30,4
XA	65,6	58,1	59,2	61,6	55,2	53,5
NfE	528,1	556,4	551,7	565,0	591,5	590,5
AME _N (MJ/kg) in TS**	14,4	15,4	15,4	14,8	15,6	15,6
Kalkulierte AS-Gehalte (g/kg wie gefüttert)***						
Lys	12,6	10,2	12,7	10,5	8,6	10,7
Met	4,9	5,1	6,6	4,6	4,8	5,3
Met+Cys	8,4	8,1	9,6	7,9	7,6	8,1
Thr	7,8	7,8	7,8	6,9	6,9	6,9
Arg	14,3	13,0	13,7	12,4	11,4	11,5
His	5,4	4,3	4,3	4,8	3,9	3,9
Ile	8,8	8,8	8,8	7,8	7,7	7,7
Leu	16,1	15,9	15,8	14,5	14,3	14,2
Val	9,3	9,9	9,8	8,3	8,7	8,9
Phe	10,3	9,1	9,1	9,2	8,2	8,2
Phe+Tyr	18,1	16,5	16,5	16,0	14,7	14,7

K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS-Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; TiO₂= Titandioxid (unverdaulicher Marker); * Wirkstoff je kg Endfutter (1%): XA 0.78%, Ca 0.21%, Na 0.08%; Vitamin A 5000.00 I.E., Vitamin D3 1000.00 I.E., Vitamin E 30.00 mg, Vitamin B1 2.60 mg, Vitamin B2 4.80 mg, Vitamin B6 3.20 mg, Vitamin B12 20.00 mcg, Vitamin K3 3.00 mg, Niacin 50.00 mg, Ca-Pantothenat 10.00 mg, Folsäure 0.90 mg, Biotin 100.00 mcg, Cholinchlorid 1000.00 mg, Eisen 50.00 mg, Fe-II-Sulf-Monohydr. 50.00 mg, Kupfer 15.00, Cu-II-Sulf-Pentahydr. 15.00 mg, Mangan 120.00 mg, Mangan-II-Oxid 120.00 mg, Zink 70.00 mg, Zn-Oxid 70.00 mg, Jod 1.4 mg, Ca-Jodat wasserfrei 0.28 mg, Selen 0.28 mg, Natriumselenit 0.28 mg, BHT (E321) 100.00 mg; ** N korrigierte scheinbare metabolisierbare Energie, berechnet nach WPSA, 1984; *** Abgeleitet aus den analysierten AS-Gehalten der Inhaltsstoffe.

Tabellenanhang 2: Versuchsdiäten Broiler Wachstumsversuch 2

Komponenten	Starter-Mischungen 75 % SES-Austausch			Grower-Mischungen 50 % SES-Austausch		
	K	SM+AS	SM-LAS	K	SM+AS	SM-LAS
Inhaltsstoffe (g/kg wie gefüttert)						
Weizen	326,7	392,5	394,8	360,2	398,8	399,9
Mais	163,4	196,2	197,4	180,1	199,4	200
Sojaschrot	390	97,5	97,5	330	165	165
Algenmehl	-	221	221	-	124,7	124,7
Sojaöl	78,5	52	52	91	76	76
Premix*	10	10	10	10	10	10
Calciumcarbonat	11	9	9	8	7	7
DCP 40	11	11	11	10	9	9
Natriumchlorid	3	0,8	0,8	2,5	1	1
Weizenstärke/TiO ₂	-	-	-	3	3	3
L-Lysin·HCl	2,5	5,8	2,3	1,8	3,6	3,6
DL-Methionin	3,6	3,5	3,5	2,6	2,5	0,8
L-Threonin	0,3	-	-	0,1	-	-
L-Arginin	-	0,2	0,2	-	-	-
L-Valin	-	-	-	0,7	-	-
L-Histidin	-	0,6	0,6	-	-	-
Analysierte Nährstoffgehalte (g/kg TS)						
XP	247,8	262,2	251,1	236,9	254,9	237,1
XL	102,2	85,2	83,9	117,1	114,5	110,3
XF	49,6	32,2	31,4	57,7	48,0	38,1
XA	63,0	55,1	54,8	61,1	60,8	54,1
NfE	537,4	565,3	578,8	527,2	521,8	560,4
AME _N (MJ/kg) in TS**	14,4	15,3	15,3	15,0	15,5	15,5
Kalkulierte AS-Gehalte (g/kg wie gefüttert)***						
Lys	13,5	13,5	10,8	11,5	11,5	11,5
Met	6,5	7,1	7,1	5,3	5,6	3,9
Met+Cys	10	10	10	8,5	8,5	6,8
Thr	8,1	8,8	8,8	7,1	7,6	7,6
Arg	14,2	14,2	14,2	12,6	12,5	12,5
His	5,4	4,6	4,6	4,9	4,1	4,1
Ile	8,8	9,9	9,9	7,9	8,5	8,5
Leu	16,1	17,5	17,6	14,6	15,4	15,4
Val	9,3	11,4	11,5	9,1	9,6	9,6
Phe	10,3	9,4	9,4	9,3	8,8	8,8
Phe+Tyr	18,1	17,4	17,4	16,2	15,9	15,9

K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= kalkulatorisch erstlimitierende AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt; TiO₂= Titandioxid (unverdaulicher Marker); * Wirkstoff je kg Endfutter (1%): XA 0.78%, Ca 0.21%, Na 0.08%; Vitamin A 5000.00 I.E., Vitamin D3 1000.00 I.E., Vitamin E 30.00 mg, Vitamin B1 2.60 mg, Vitamin B2 4.80 mg, Vitamin B6 3.20 mg, Vitamin B12 20.00 mcg, Vitamin K3 3.00 mg, Niacin 50.00 mg, Ca-Pantothenat 10.00 mg, Folsäure 0.90 mg, Biotin 100.00 mcg, Cholinchlorid 1000.00 mg, Eisen 50.00 mg, Fe-II-Sulf-Monohydr. 50.00 mg, Kupfer 15.00, Cu-II-Sulf-Pentahydr. 15.00 mg, Mangan 120.00 mg, Mangan-II-Oxid 120.00 mg, Zink 70.00 mg, Zn-Oxid 70.00 mg, Jod 1.4 mg, Ca-Jodat wasserfrei 0.28 mg, Selen 0.28 mg, Natriumselenit 0.28 mg, BHT (E321) 100.00 mg; ** N korrigierte scheinbare metabolisierbare Energie, berechnet nach WPSA, 1984; *** Abgeleitet aus den analysierten AS-Gehalten der Inhaltsstoffe.

Tabellenanhang 3: Versuchsdiäten Broiler Wachstumsversuch 3

Komponenten	Starter-Mischungen 100 % SES-Austausch			Grower-Mischungen 100 % SES-Austausch		
	K	SM+AS	SM-LAS	K	SM+AS	SM-LAS
<i>Inhaltsstoffe (g/kg wie gefüttert)</i>						
Weizen	326,3	478,2	480,5	359,9	485,3	487,2
Mais	163,2	239,1	240,3	178,0	242,6	243,6
Sojaschrot	390	-	-	330	-	-
Algenmehl	-	230	230	-	200	200
Sojaöl	78,5	10	10	91	34	34
Premix*	10	10	10	10	10	10
Calciumcarbonat	11	9	9	8	6	6
DCP 40	11	12	12	10	11	11
Natriumchlorid	3	1	1	2,5	0,5	0,5
Weizenstärke/TiO ₂	-	-	-	3	3	3
L-Lysin·HCl	2,5	6,2	2,7	1,8	4,7	1,8
DL-Methionin	2,2	1,0	1,0	1,7	0,6	0,6
L-Threonin	0,3	-	-	0,1	-	-
L-Histidin	-	0,7	0,70	-	0,3	0,3
L-Valin	-	-	-	0,7	-	-
L-Cystein·HCl x H ₂ O	2,0	2,8	2,8	1,3	2,0	2,0
<i>Analysierte Nährstoffgehalte (g/kg TS)</i>						
XP	246,4	240,3	261,2	218,6	222,8	229,3
XL	104,2	46,8	47,5	116,9	66,3	65,1
XF	52,3	18,2	20,0	39,1	15,4	15,9
XA	63,4	58,4	60,8	61,9	55,5	55,8
NfE	533,7	636,3	610,5	563,5	640,0	633,9
AME _N (MJ/kg) in TS**	14,4	14,9	14,9	15,0	15,4	15,4
<i>Kalkulierte AS-Gehalte (g/kg wie gefüttert)</i>						
Lys	13,5	13,5	10,8	11,5	11,5	9,2
Met	5,1	5,1	5,1	4,4	4,4	4,4
Met+Cys	10,0	10,0	10,0	8,5	8,5	8,5
Thr	8,1	8,7	8,8	7,1	7,9	7,9
Arg	14,2	14,2	14,2	12,6	12,8	12,9
His	5,4	4,6	4,6	4,9	3,9	3,9
Ile	8,8	9,6	9,6	7,9	8,7	8,7
Leu	16,1	17,2	17,3	14,6	15,8	15,8
Val	9,3	10,8	10,8	9,1	9,8	9,8
Phe	10,3	9,0	9,0	9,3	8,3	8,3
Phe+Tyr	18,1	16,9	17,0	16,2	15,5	15,5

K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-LAS= kalkulatorisch erstlimitierende AS auf 80% ihrer Empfehlung herabgesetzt; TiO₂= Titandioxid (unverdaulicher Marker); * Wirkstoff je kg Endfutter (1%): XA 0.78%, Ca 0.21%, Na 0.08%; Vitamin A 5000.00 I.E., Vitamin D3 1000.00 I.E., Vitamin E 30.00 mg, Vitamin B1 2.60 mg, Vitamin B2 4.80 mg, Vitamin B6 3.20 mg, Vitamin B12 20.00 mcg, Vitamin K3 3.00 mg, Niacin 50.00 mg, Ca-Pantothenat 10.00 mg, Folsäure 0.90 mg, Biotin 100.00 mcg, Cholinchlorid 1000.00 mg, Eisen 50.00 mg, Fe-II-Sulf-Monohydr. 50.00 mg, Kupfer 15.00, Cu-II-Sulf-Pentahydr. 15.00 mg, Mangan 120.00 mg, Mangan-II-Oxid 120.00 mg, Zink 70.00 mg, Zn-Oxid 70.00 mg, Jod 1.4 mg, Ca-Jodat wasserfrei 0.28 mg, Selen 0.28 mg, Natriumselenit 0.28 mg, BHT (E321) 100.00 mg; ** N korrigierte scheinbare metabolisierbare Energie, berechnet nach WPSA, 1984; *** Abgeleitet aus den analysierten AS-Gehalten der Inhaltsstoffe.

Tabellenanhang 4: Versuchsdiäten Broiler N-Bilanzversuch 1

Komponenten	Starter-Mischungen 100% SES-Austausch			Grower-Mischungen 100% SES-Austausch		
	K	SM+	SM+AS	K	SM+	SM+AS
<i>Inhaltsstoffe (g/kg wie gefüttert)</i>						
Weizen	328,8	449,6	442,6	375,8	493,5	488,6
Mais	164,4	224,8	221,3	187,9	246,7	244,3
Sojaschrot	390	-	-	320	-	-
Algenmehl	-	210	210	-	170	170
Sojaöl	78,5	78,5	78,5	78,5	55	55
Premix*	10	10	10	10	10	10
Calciumcarbonat	11	9,1	9,1	9	7	7
DCP 40	11	13	13	10	11	11
Natriumchlorid	3	1,7	1,7	3	1	1
Weizenstärke	-	-	-	3	3	3
L-Lysin·HCl	1,3	1,3	7,0	0,8	0,8	5,5
DL-Methionin	2	2	3,6	2	2	2,5
L-Arginin	-	-	2,2	-	-	1,4
L-Valin	-	-	-	-	-	0,3
L-Histidin	-	-	1,0	-	-	0,5
<i>Analysierte Nährstoffgehalte (g/kg TS)</i>						
XP	249,5	212,9	225,5	222,9	203,3	202,3
XL	111,6	117,7	119,6	118,3	93,0	87,8
XF	45,2	22,2	22,7	45,7	19,4	20,1
XA	65,6	51,9	52,7	60,6	47,3	45,2
NfE	528,1	595,3	579,5	552,5	637,0	644,6
AME _N (MJ/kg) in TS**	14,4	16,3	16,3	14,8	15,9	15,9
<i>Kalkulierte AS-Gehalte (g/kg wie gefüttert)***</i>						
Lys	12,6	7,4	11,8	10,5	6,4	10,0
Met	4,9	5,1	6,7	4,6	4,8	5,3
Met+Cys	8,4	7,5	9,1	7,9	7,2	7,7
Thr	7,8	7,2	7,2	6,9	6,4	6,4
Arg	14,3	10,9	13,1	12,4	9,7	11,1
His	5,4	3,1	4,0	4,8	3,0	3,4
Ile	8,8	8,1	8,0	7,8	7,1	7,1
Leu	16,1	14,6	14,6	14,5	13,4	13,3
Val	9,3	9,6	9,6	8,3	8,6	8,8
Phe	10,3	7,5	7,4	9,2	6,9	6,9
Phe+Tyr	18,1	14,0	13,9	16,0	12,8	12,7

K= Kontrolle; SM+= SM mit Basis AS Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS Supplementierung;
 * Wirkstoff je kg Endfutter (1%): XA 0.78%, Ca 0.21%, Na 0.08%; Vitamin A 5000.00 I.E., Vitamin D3 1000.00 I.E., Vitamin E 30.00 mg, Vitamin B1 2.60 mg, Vitamin B2 4.80 mg, Vitamin B6 3.20 mg, Vitamin B12 20.00 mcg, Vitamin K3 3.00 mg, Niacin 50.00 mg, Ca-Pantothenat 10.00 mg, Folsäure 0.90 mg, Biotin 100.00 mcg, Cholinchlorid 1000.00 mg, Eisen 50.00 mg, Fe-II-Sulf-Monohydr. 50.00 mg, Kupfer 15.00, Cu-II-Sulf-Pentahydr. 15.00 mg, Mangan 120.00 mg, Mangan-II-Oxid 120.00 mg, Zink 70.00 mg, Zn-Oxid 70.00 mg, Jod 1.4 mg, Ca-Jodat wasserfrei 0.28 mg, Selen 0.28 mg, Natriumselenit 0.28 mg, BHT (E321) 100.00 mg; ** N korrigierte scheinbare metabolisierbare Energie, berechnet nach WPSA, 1984; *** Abgeleitet aus den analysierten AS-Gehalten der Inhaltsstoffe.

Tabellenanhang 5: Versuchsdiäten Broiler N-Bilanzversuch 2

Komponenten	Starter-Mischungen 100 % SES-Austausch					Grower-Mischungen 100 % SES-Austausch				
	K	SM+ AS	SM- Lys	SM- Met+ Cys	SM- His	K	SM+ AS	SM- Lys	SM- Met+ Cys	SM- His
<i>Inhaltsstoffe (g/kg wie gefüttert)</i>										
Weizen	326,3	451,6	454,0	453,3	452,3	362,6	466,0	467,9	467,4	466,5
Mais	163,2	225,8	227,0	226,6	226,1	181,3	233,0	234,0	233,7	233,2
Sojaschrot	390	-	-	-	-	330	-	-	-	-
Algenmehl	-	240	240	240	240	-	210	210	210	210
Sojaöl	78,5	34	34	34	34	90	53	53	53	53
Premix*	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Calcium- carbonat	10	9	9	9	9	8	6	6	6	6
DCP 40	10	12	12	12	12	10	10	10	10	10
Natriumchlorid	3	0,8	0,8	0,8	0,8	2,5	0,2	0,2	0,2	0,2
L-Lysin-HCl	2,5	8,2	4,7	8,2	8,2	1,8	6,4	3,4	6,4	6,4
DL-Methionin	2,2	1,6	1,6	0,5	1,6	1,7	1,2	1,2	0,4	1,2
L-Threonin	0,3	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
L-Histidin	-	1,3	1,3	1,3	0,4	-	0,8	0,8	0,8	-
L-Arginin	-	2,1	2,1	2,1	2,1	-	1,1	1,1	1,1	1,1
L-Tryptophan	-	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-
L-Cystein-HCl x H ₂ O	2,0	3,4	3,4	2,2	3,4	1,3	2,5	2,5	1,1	2,5
<i>Analysierte Nährstoffgehalte (g/kg TS)</i>										
XP	257,7	250,4	258,8	253,0	240,5	227,9	226,1	228,2	227,4	225,7
XL	110,2	69,6	71,4	70,6	72,4	118,2	93,7	92,9	86,5	89,2
XF	56,5	24,5	28,1	29,9	24,4	53,7	25,2	23,0	25,5	28,4
XA	68,5	52,8	53,2	52,7	52,6	56,6	47,2	46,9	47,1	43,6
NfE	507,1	602,7	588,5	593,8	610,1	543,6	607,8	609,0	613,5	613,1
AME _N (MJ/kg) in TS**	14,4	15,4	15,4	15,4	15,4	15,0	15,9	15,9	15,9	15,9
<i>Kalkulierte AS-Gehalte (g/kg wie gefüttert)</i>										
Lys	13,5	13,5	10,8	13,5	13,5	11,5	11,5	9,2	11,5	11,5
Met	5,1	5,1	5,1	4,0	5,1	4,4	4,3	4,4	3,6	4,3
Met+Cys	10	10	10	8,0	10	8,5	8,5	8,5	6,8	8,5
Thr	8,1	7,9	7,9	7,9	7,9	7,1	7,3	7,3	7,3	7,3
Arg	14,2	14,2	14,2	14,2	14,2	12,6	12,1	12,1	12,1	12,1
His	5,4	4,6	4,6	4,6	3,7	4,9	4,0	3,9	3,9	3,2
Ile	8,8	8,9	8,9	8,9	8,9	7,9	8,1	8,1	8,1	8,1
Leu	16,1	16,0	16,0	16,0	16,0	14,6	14,8	14,9	14,9	14,8
Val	9,3	10,6	10,6	10,6	10,6	9,1	9,7	9,7	9,7	9,7
Phe	10,3	8,1	8,1	8,1	8,1	9,3	7,6	7,6	7,6	7,6
Phe+Tyr	18,1	15,3	15,3	15,3	15,3	16,2	14,2	14,2	14,2	14,2

K= Kontrolle; SM+AS= SM mit erweiterter AS-Supplementierung; SM-Lys, SM-Met+Cys und SM-His = limitierende AS auf 80 % ihrer Empfehlung herabgesetzt; TiO₂= Titandioxid (unverdaulicher Marker); * Wirkstoff je kg Endfutter (1%): XA 0.78%, Ca 0.21%, Na 0.08%; Vitamin A 5000.00 I.E., Vitamin D3 1000.00 I.E., Vitamin E 30.00 mg, Vitamin B1 2.60 mg, Vitamin B2 4.80 mg, Vitamin B6 3.20 mg, Vitamin B12 20.00 mcg, Vitamin K3 3.00 mg, Niacin 50.00 mg, Ca-Pantothemat 10.00 mg, Folsäure 0.90 mg, Biotin 100.00 mcg, Cholinchlorid 1000.00 mg, Eisen 50.00 mg, Fe-II-Sulf-Monohydr. 50.00 mg, Kupfer 15.00, Cu-II-Sulf-Pentahydr. 15.00 mg, Mangan 120.00 mg, Mangan-II-Oxid 120.00 mg, Zink 70.00 mg, Zn-Oxid 70.00 mg, Jod 1.4 mg, Ca-Jodat wasserfrei 0.28 mg, Selen 0.28 mg, Natriumselenit 0.28 mg, BHT (E321) 100.00 mg; ** N korrigierte scheinbare metabolisierbare Energie, berechnet nach WPSA, 1984; *** Abgeleitet aus den analysierten AS-Gehalten der Inhaltsstoffe.

**Tabellenanhang 6: Versuchsdiäten Ferkel und Mastschweine Wachstumsversuch 1
(11-120 kg LM)**

Komponenten	Ferkel (11-25 kg) 50 % SES-Austausch			Schwein (25-50 kg) 50 % SES- Austausch		Schwein (50 -75kg) 50 % SES- Austausch		Schwein (75 -120 kg) 100 % SES- Austausch	
	K	SM+	SM +AS	K	SM +AS	K	SM +AS	K	SM +AS
<i>Inhaltsstoffe (g/kg wie gefüttert)</i>									
Weizen	325,5	346,8	346,5	365,2	371,8	394,1	399	416,8	431,1
Gerste	325,5	346,8	346,5	365,2	371,8	394,1	399	416,8	431,1
Sojaschrot	280	140	140	220	110	175	88	140	-
Algenmehl	-	84,9	84,9	-	83,1	-	66	-	95
Sojaöl	30	45	42	24	37	14	24	5	20
Premix*	15	15	15	10	10	10	10	10	10
Calciumcarbonat	12	11	11	11	10	9	9	8	7
Natriumchlorid	3	2	2	0,5	-	0,5	-	-	-
TiO ₂	3	3	3	-	-	-	-	-	-
L-Lysin-HCl	4,4	4,4	7	3,4	5,4	3	4,6	3,1	5,5
DL-Methionin	0,5	0,5	0,9	0,1	0,4	0,4	-	-	-
L-Threonin	1,1	0,6	1,3	0,6	0,6	-	0,4	0,4	0,3
<i>Analysierte Nährstoffgehalte (g/kg TS)</i>									
XP	216,5	220,0	233,9	190,4	192,4	201,4	203,2	139,0	172,7
XL	58,7	83,4	79,4	50,3	65,3	42,0	60,6	36,3	51,5
XF	51,4	41,2	43,5	56,4	40,1	45,1	52,4	43,7	39,4
XA	59,6	63,3	62,1	52,3	46,1	47,9	52,0	40,2	38,5
NfE	613,8	592,1	591,1	650,6	656,1	663,3	631,8	740,8	697,9
ME (MJ/kg) in TS**	15,2	16,0	16,0	15,3	16,1	15,2	15,8	15,1	15,9
<i>Kalkulierte AS-Gehalte (g/kg wie gefüttert)***</i>									
Lys	12,8	11,2	13,2	10,8	11,3	9,5	9,9	8,8	9,1
Met	3,1	3,2	3,6	2,5	3	2,2	2,4	2,1	2,3
Met+Cys	6,5	6,1	6,4	5,5	5,8	5,1	5,1	4,9	4,7
Thr	7,7	7,1	7,8	6,5	6,8	5,7	6,0	5,3	5,3
Arg	11,8	10,8	10,8	10,3	10,1	9,1	9,0	8,3	7,7
His	4,5	3,7	3,7	4,0	3,4	3,6	3,2	3,4	2,6
Ile	7,3	7,2	7,2	6,4	6,8	5,8	6,0	5,3	5,4
Leu	12,9	12,6	12,6	11,6	11,9	10,5	10,8	9,7	9,7
Val	8,0	8,4	8,4	7,3	8,0	6,7	7,2	6,2	6,8
Phe	8,7	7,8	7,8	7,8	7,3	7,1	6,7	6,6	5,8
Phe+Tyr	15,1	13,8	13,8	13,4	13,0	12,2	11,9	11,2	10,3

K= Kontrollgruppe; SM+= SM mit Basis AS Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS Supplementierung; *Wirkstoff je kg Endfutter (1,5% Ferkel): Ca, 0.18%; P, 0.21%; Na, 0.008%; Mg, 0.10%; Vitamin A, 9,000 IE; Vitamin D3, 1,050 IE; Vitamin E, 52.5 mg; Thiamin, 1.5 mg; Riboflavin, 4.5 mg; Vitamin B6, 3.8 mg; Vitamin B12, 30 mcg; Vitamin K3, 3 mg; Niacin, 18.8 mg; Calcium-Pantothenat, 11.3 mg; Folsäure, 1.1 mg; Biotin, 225 mcg; Cholinchloride, 525 mg; Eisen, 150 mg; Kupfer, 30 mg; Mangan, 37.5 mg; Zink, 150 mg; Jod, 0.23 mg; Selen, 0.23 mg; Phytase (EC 3.1.3.8), 501 FTU; Wirkstoff je kg Endfutter (1% Mastschweine): Ca, 0.14%; P, 0.10%; Na, 0.12%; Vitamin A, 4,000 IE; Vitamin D3, 500 IE; Vitamin E, 40 mg; Thiamin, 1.5 mg; Riboflavin, 6.0 mg; Vitamin B6, 3 mg; Vitamin B12, 30 mcg; Vitamin K3, 3 mg; Niacin, 20.0 mg; Calcium-Pantothenat, 12.0 mg; Folsäure, 0.5 mg; Biotin, 100 mcg; Cholinchloride, 100 mg; Eisen, 80 mg; Kupfer, 5 mg; Mangan, 27.5 mg; Zink, 75 mg; Jod, 0.68 mg; Selen, 0.2 mg; Phytase (EC 3.1.3.8), 500 FTU; **Metabolisierbare Energie, berechnet nach Mischfutterformel HYBRIMIN®; *** Abgeleitet aus den analysierten AS-Gehalten der Inhaltsstoffe.

**Tabellenanhang 7: Versuchsdiäten Ferkel und Mastschweine Wachstumsversuch 2
(11-120 kg LM)**

Komponenten	Ferkel (11-25 kg) 75% SES-Austausch			Schwein (25-50 kg) 75 % SES- Austausch		Schwein (50 -75 kg) 75 % SES- Austausch		Schwein (75 -120 kg) 100 % SES- Austausch	
	K	SM+	SM +AS	K	SM +AS	K	SM +AS	K	SM +AS
	<i>Inhaltsstoffe (g/kg wie gefüttert)</i>								
Weizen	327	342	339,5	365	376	394,1	402,2	416,8	430,8
Gerste	327	342	339,5	365	376	394,1	402,2	416,8	430,8
Sojaschrot	280	70	70	220	55	175	43,7	140,0	-
Algenmehl	-	158,6	158,6	-	124,6	-	99,2	-	95
Sojaöl	27	52	52	24	41	14	28	5	20
Premix*	15	15	15	10	10	10	10	10	10
Calciumcarbonat	12	11	11	11	10	9	9	8	7
Natriumchlorid	3	1	1	0,5	-	0,5	-	-	-
TiO ₂	3	3	3	-	-	-	-	-	-
L-Lysin-HCl	4,2	4,2	7,5	3,3	6,0	3	5,1	3,1	5,5
DL-Methionin	0,7	0,7	0,9	0,7	0,4	-	-	-	-
L-Threonin	1	0,4	0,8	0,6	0,4	0,4	0,2	0,4	0,4
L-Histidin	-	-	1,2	-	0,8	-	0,5	-	0,6
	<i>Analysierte Nährstoffgehalte (g/kg TS)</i>								
XP	219,6	215,0	217,6	197,0	190,9	181,4	185,2	170,0	149,6
XL	51,6	87,6	90,8	50,9	70,5	41,5	60,3	32,6	45,9
XF	58,3	42,1	38,9	56,7	38,2	62,4	48,7	53,7	42,0
XA	59,6	52,8	54,6	50,8	46,4	47,7	42,5	43,8	33,0
NfE	610,9	602,5	598,1	644,6	654,0	667,0	663,3	699,9	729,5
ME (MJ/kg) in TS**	15,2	16,5	16,5	15,3	16,4	15,2	16,0	15,1	15,9
	<i>Kalkulierte AS-Gehalte (g/kg wie gefüttert)***</i>								
Lys	12,7	10,8	13,3	10,7	11,2	9,5	9,9	8,8	9,1
Met	3,3	3,8	4	3,1	3,1	2,2	2,5	2,1	2,3
Met+Cys	6,6	6,5	6,6	6,1	5,7	5,1	5,1	4,9	4,7
Thr	7,6	7,6	7,9	6,4	6,7	5,7	5,9	5,3	5,4
Arg	11,8	11,4	11,4	10,3	10,0	9,2	8,9	8,3	7,7
His	4,5	3,4	4,5	4,0	3,9	3,6	3,4	3,4	3,2
Ile	7,3	7,9	7,9	6,4	6,9	5,8	6,2	5,3	5,4
Leu	13	13,6	13,6	11,6	12,1	10,5	10,9	9,7	9,7
Val	8,1	9,4	9,4	7,3	8,3	6,7	7,5	6,2	6,8
Phe	8,7	7,9	7,8	7,8	7,1	7,1	6,6	6,6	5,8
Phe+Tyr	15,1	14,3	14,3	13,4	12,8	12,2	11,7	11,2	10,3

K= Kontrollgruppe; SM+= SM mit Basis AS Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS Supplementierung; *Wirkstoff je kg Endfutter (1,5% Ferkel): Ca, 0.18%; P, 0.21%; Na, 0.008%; Mg, 0.10%; Vitamin A, 9,000 IE; Vitamin D3, 1,050 IE; Vitamin E, 52.5 mg; Thiamin, 1.5 mg; Riboflavin, 4.5 mg; Vitamin B6, 3.8 mg; Vitamin B12, 30 mcg; Vitamin K3, 3 mg; Niacin, 18.8 mg; Calcium-Pantothenat, 11.3 mg; Folsäure, 1.1 mg; Biotin, 225 mcg; Cholinchloride, 525 mg; Eisen, 150 mg; Kupfer, 30 mg; Mangan, 37.5 mg; Zink, 150 mg; Jod, 0.23 mg; Selen, 0.23 mg; Phytase (EC 3.1.3.8), 501 FTU; Wirkstoff je kg Endfutter (1% Mastschweine): Ca, 0.14%; P, 0.10%; Na, 0.12%; Vitamin A, 4,000 IE; Vitamin D3, 500 IE; Vitamin E, 40 mg; Thiamin, 1.5 mg; Riboflavin, 6.0 mg; Vitamin B6, 3 mg; Vitamin B12, 30 mcg; Vitamin K3, 3 mg; Niacin, 20.0 mg; Calcium-Pantothenat, 12.0 mg; Folsäure, 0.5 mg; Biotin, 100 mcg; Cholinchloride, 100 mg; Eisen, 80 mg; Kupfer, 5 mg; Mangan, 27.5 mg; Zink, 75 mg; Jod, 0.68 mg; Selen, 0.2 mg; Phytase (EC 3.1.3.8), 500 FTU; ** Metabolisierbare Energie, berechnet nach Mischfutterformel HYBRIMIN[®]; *** Abgeleitet aus den analysierten AS-Gehalten der Inhaltsstoffe.

**Tabellenanhang 8: Versuchsdiäten Ferkel und Mastschweine N-Bilanzversuch 1
(25 und 60 kg LM)**

Komponenten	Ferkel (25 kg)		Schwein (60 kg)		
	100 % SES-Austausch		100 % SES-Austausch		
	SM+	SM+AS	SM+	SM+AS	SM+AS _{His}
<i>Inhaltsstoffe (g/kg wie gefüttert)</i>					
Weizen	347,4	345,2	405,7	404,5	404
Gerste	347,4	345,2	405,7	404,5	404
Algenmehl	210	210	130	130	130
Sojaöl	62	62	35	35	35
Premix*	15	15	10	10	10
Calciumcarbonat	10	10	8	8	8
Natriumchlorid	1	1	-	-	-
TiO ₂	3	3	3	3	3
L-Lysin·HCl	4,3	7,6	2,7	5,1	5,1
DL-Methionin	-	0,7	-	-	-
L-Threonin	-	0,3	-	-	-
L-Histidin	-	-	-	-	1
<i>Analysierte Nährstoffgehalte (g/kg TS)</i>					
XP	221,8	222,1	189,0	181,2	186,7
XL	100,1	99,1	69,7	68,4	65,4
XF	29,1	30,6	38,9	39,6	30,2
XA	51,1	50,3	42,1	43,0	42,4
NfE	597,9	597,9	660,3	667,8	675,3
ME (MJ/kg) in TS**	17,0	17,0	16,3	16,3	16,3
<i>Kalkulierte AS-Gehalte*** (g/kg wie gefüttert)</i>					
Lys	10,2	12,7	7,6	9,4	9,4
Met	3,2	3,9	2,6	2,6	2,6
Met+Cys	5,7	6,4	5,0	5,0	5,0
Thr	7,3	7,6	5,7	5,7	5,7
Arg	11,2	11,2	8,8	8,8	8,8
His	3,0	3,0	2,7	2,7	3,7
Ile	8,1	8,1	6,2	6,2	6,2
Leu	13,8	13,7	10,9	10,9	10,9
Val	9,8	9,8	7,7	7,7	7,7
Phe	7,6	7,5	6,3	6,3	6,3
Phe+Tyr	14,0	14,0	11,4	11,4	11,4

K= Kontrollgruppe; SM+= SM mit Basis AS Supplementierung; SM+AS= SM mit erweiterter AS Supplementierung; SM+AS_{His}= SM mit erweiterter AS Supplementierung + Histidin; *Wirkstoff je kg Endfutter (1,5% Ferkel): Ca, 0.18%; P, 0.21%; Na, 0.008%; Mg, 0.10%; Vitamin A, 9,000 IE; Vitamin D3, 1,050 IE; Vitamin E, 52.5 mg; Thiamin, 1.5 mg; Riboflavin, 4.5 mg; Vitamin B6, 3.8 mg; Vitamin B12, 30 mcg; Vitamin K3, 3 mg; Niacin, 18.8 mg; Calcium-Pantothemat, 11.3 mg; Folsäure, 1.1 mg; Biotin, 225 mcg; Cholinchloride, 525 mg; Eisen, 150 mg; Kupfer, 30 mg; Mangan, 37.5 mg; Zink, 150 mg; Jod, 0.23 mg; Selen, 0.23 mg; Phytase (EC 3.1.3.8), 501 FTU; Wirkstoff je kg Endfutter (1% Mastschweine): Ca, 0.14%; P, 0.10%; Na, 0.12%; Vitamin A, 4,000 IE; Vitamin D3, 500 IE; Vitamin E, 40 mg; Thiamin, 1.5 mg; Riboflavin, 6.0 mg; Vitamin B6, 3 mg; Vitamin B12, 30 mcg; Vitamin K3, 3 mg; Niacin, 20.0 mg; Calcium-Pantothemat, 12.0 mg; Folsäure, 0.5 mg; Biotin, 100 mcg; Cholinchloride, 100 mg; Eisen, 80 mg; Kupfer, 5 mg; Mangan, 27.5 mg; Zink, 75 mg; Jod, 0.68 mg; Selen, 0.2 mg; Phytase (EC 3.1.3.8), 500 FTU; ** Metabolisierbare Energie, berechnet nach Mischfutterformel HYBRIMIN®; *** Abgeleitet aus den analysierten AS-Gehalten der Inhaltsstoffe.

13 Anhang Publikationen

13.1 Publikation 1

Improving the Dietary Protein Quality by Amino Acid
Fortification with a High Inclusion Level of Micro Algae
(*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) in
Meat Type Chicken Diets

von

Neumann, C., Velten, S. und Liebert, F.

2018 *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 12-26

<https://doi.org/10.4236/ojas.2018.81002>

Improving the Dietary Protein Quality by Amino Acid Fortification with a High Inclusion Level of Micro Algae (*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) in Meat Type Chicken Diets

Carmen Neumann, Susanne Velten, Frank Liebert

Department of Animal Sciences, Division Animal Nutrition Physiology, Georg-August-University of Goettingen, Goettingen, Germany
Email: flieber@gwdg.de

How to cite this paper: Neumann, C., Velten, S. and Liebert, F. (2018) Improving the Dietary Protein Quality by Amino Acid Fortification with a High Inclusion Level of Micro Algae (*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) in Meat Type Chicken Diets. *Open Journal of Animal Sciences*, 8, 12-26.

<https://doi.org/10.4236/ojas.2018.81002>

Received: October 1, 2017

Accepted: December 1, 2017

Published: December 4, 2017

Copyright © 2018 by authors and Scientific Research Publishing Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

The objective of this study was to measure protein quality parameters (PPV, NPU and NPU_{std}) of chicken diets with complete substitution of soybean meal (SBM) by Spirulina meal (SM) or partly defatted Hermetia meal (HM). N balance experiments were based on the quantitative excreta collection method, divided into starter period (10 - 20 d) and grower period (25 - 35 d). The study utilized 70 all male meat type chicken (Ross 308). Data assessment applied the exponential N utilization model of the “Goettingen approach”. The control diet was based on wheat, corn and SBM. In four experimental diets SBM was completely substituted by SM or HM, but fortified with feed amino acids (AA) both on a basic level of supplementation (Lys and Met added equal to the control diet) and on an extended level (Lys, Met, Thr, Arg, Val, Ile, His added). At a basic level of AA supplementation, complete replacement of SBM by SM or HM in chicken diets depressed dietary protein quality significantly ($p < 0.05$). However, the extended level of AA supplementation improved protein quality parameters of the diets with both of the alternative proteins significantly ($p < 0.05$), but still generally not on par with the control diet. The observed responses were accentuated when the well-known effect of N intake on protein utilization was eliminated through the standardization of N intake by application of the “Goettingen approach”.

Keywords

N Balance, Growing Chickens, N Utilization Model, Amino Acids, Protein Quality, *Spirulina platensis*, *Hermetia illucens*

1. Introduction

Traditionally, soybean meal (SBM) is the major ingredient to meet protein and amino acid (AA) requirements in mixed diets for growing chickens. In addition, soybeans are also a basic component of human nutrition and therefore in competition with uses for raising livestock and poultry. To keep up with increasing food demand, derived from an increasing global population and consumption of meat [1], soybean production is expected to increase from today's 217 Mt to 390 Mt in 2050 [2]. However, increasing the amount of arable land used for cultivation is an unfeasible strategy due to the growing density of industrial and private building development as well as the associated negative consequences of accelerated soil erosion and desertification. Therefore, the search for alternative sources to close the protein gap in animal feeding is essential. The major challenge facing the poultry industry is the supply of feeds that will contain all the necessary dietary components for birds to grow efficiently.

Today, both the blue-green alga *Spirulina platensis* and the *Hermetia illucens* fly larvae are qualified as adequate sources of nutrients in poultry diets, due to their high protein contents as well as vitamin and mineral supplies [3]-[9]. Spirulina meal (SM) has been introduced as feed ingredient in poultry diets more than 20 years ago [10] [11]. It has already been demonstrated that *Spirulina platensis* can successfully be included in broiler diets [8] [9]. However, an inclusion rate higher than 20% of the overall diet can result in depressed growth rates, but up to 15% inclusion is well tolerated in chicken diets [11] [12]. Austic *et al.* [13] reported when SBM was replaced with the microalga *Staurosira* sp., 7.5% of overall diet, with a basic AA supplementation, decreased growth during the first three weeks of age and feed efficiency during 0 - 6 weeks of age could be observed. However, when diets were adequately supplemented with an extended level of indispensable AAs (Met, Lys, Arg, Ile, Thr, Trp, Val) the performance data were similar to those of the control group.

Insects have also been tested as a potential alternative to SBM and are becoming a very popular topic in poultry nutrition. Insects at different developmental stages are naturally ingested by wild birds and free-range poultry species [14]. Consequently, birds are evolutionary well adapted to insects as a part of their nutritional intake [15]. To date, the most widely studied insect meal, as an alternative protein source, is housefly larvae meal. Several studies have demonstrated that housefly larvae meal may be able to completely or partially replace groundnut meal [16], fishmeal [17] [18], or SBM [14] [19]. However, *Hermetia* meal (HM) qualifies as an interesting option because of its beneficial AA profile [20] [21]; the proportions of lysine and methionine are superior to SBM [21]. De Marco *et al.* [22] identified HM as an excellent source of digestible AAs for growing chickens, and Elwert *et al.* [23] concluded that full fat HM yields a protein quality similar to fishmeal. In addition, Maurer *et al.* [24] reported that HM may substitute up to 100% of soybean products in diets for layers. However, validated quantitative evidence regarding the application of *Hermetia illucens* in-

sect meal in broiler diets are scarce [22] [25]. Presently, in Europe insect-based meals are not allowed to be included in livestock and poultry feeds [26]; this in corporation with the scarce evidence on HM is currently hindering HM use in poultry diets. Nonetheless, the EU legislative barriers are expected to be overcome in the near future so that this promising protein source could be integrated into poultry diets similar to aquafeed [27].

To date, very high inclusion rates in chicken diets of both of the alternative protein sources in this study have rarely been studied. Specifically, it has to be pointed out that both feed protein quality and dietary amino acid efficiency have not yet been investigated. Consequently, as a part of the multidisciplinary project “Sustainability Transitions in the Food Chain” (Supported by the Lower Saxony Ministry of Science and Culture) the current study aims to quantify the dietary protein quality of meat type chicken diets where SBM is completely substituted with partly defatted *Hermetia* meal (HM) or *Spirulina* meal (SM). In addition, the potential to improve the feed protein quality through fortification of the dietary AA balance is investigated based on N balance studies.

2. Material and Methods

The N balance studies were conducted at facilities of the Division Animal Nutrition Physiology of Georg-August-University of Goettingen and permitted (03.2016/AZ15/2027) by the Ethics Committee of the Lower Saxony Federal Office for Consumer Protection and Food Safety (LAVES), Germany.

2.1. Chemical Composition of Microalgae and Insect Larvae

The *Spirulina platensis* microalga powder used in the diets was a sun dried commercial *Spirulina* source obtained from Myanmar and declared to be free of GMO, irradiation, pesticides, colorants, preservatives and additives. As demonstrated by the nutrient composition of the protein sources (Table 1), the lipid fraction was not extracted from the algae meal. The microcystine content was analyzed by an external laboratory (TeLA GmbH, Geestland, Germany) and remained under the detection limit. HM was obtained from a commercial producer (*Hermetia* Futtermittel GbR, Baruth/Mark, Germany). The black soldier fly larvae were separated from the substrate (rye flour, wheat bran) after 20 days, dried for 14 hours at 65°C to 70°C, then partly defatted with a screw press, until finally the larvae were ground into a meal. The nutritional contents of the two final alternative protein source products can be found in Table 1.

2.2. Stock and Husbandry

All male one-day-old meat type chickens (Ross 308) were obtained from a commercial hatchery and housed using at climatic conditions according to the Ross management recommendations [28]. Monochromatic (red) light was delivered for 23 hours daily. Up until the start of the N balance procedure, the birds were housed with standard feeding and management practices on wood shaving litter

Table 1. Analyzed nutrient composition of *Spirulina platensis* and *Hermetia illucens* meals as used for diet formulation.

Nutrient contents	Spirulina meal		Hermetia meal	
Moisture (%)	3.4		5.5	
Crude protein (% of DM)	58.8		60.8	
Crude ash (% of DM)	6.1		7.5	
Crude lipids (% of DM)	4.3		14.1	
Crude fibre (% of DM)	0.49*		10.92	
AA contents	mgAA/gDM	gAA/16gN	mgAA/gDM	gAA/16gN
Lys	22.97	3.91	32.97	5.42
Met	10.61	1.81	7.53	1.24
Cys	4.53	0.77	4.89	0.80
Thr	25.77	4.39	21.70	3.57
Arg	39.92	6.79	25.05	4.12
Val	34.50	5.87	32.58	5.36
Leu	47.23	8.04	37.95	6.24
Ile	29.81	5.07	23.47	3.86
His	7.51	1.28	16.58	2.73

*Preliminary data, due to difficulties in application of the standard procedure.

floor pens and only average weight birds were selected for the N balance trials. In total, the trials utilized 70 birds, divided into starter period (10 - 20 d; 35 birds) and grower period (25 - 35 d, 35 birds), respectively. At a trial start (starter period or grower period), the birds were first moved to metabolic cages adapted in size for the starter or grower period (25 × 30 cm; 80 × 80 cm), equipped with a wire floor, individual feeding troughs, and an automatic drinking system. Then the birds passed through an adaptation period of 5 days previous to the two consecutive collection periods (5 d each). For both of the age periods, separate birds were randomly allotted to the experimental diets.

2.3. Diets and Feeding

Experimental diets were mixed and pelleted at the facilities of the Division Animal Nutrition Physiology of the University of Goettingen. In both of the age periods, the 35 birds were randomly allotted into five pelleted diets resulting in 7 birds per diet. The starter/grower control diets were based on wheat (33/38%), corn (16/19%) and SBM (39/32%) as the main ingredients (Table 2). In the experimental diets, SBM was completely substituted by SM or HM starter/grower diets contained 21/17% SM or 26/22% HM in order to ensure recommended crude protein (CP) levels. The experimental diets were additionally fortified with supplemented feed AAs. Two of these diets were supplemented to the basic level (Lys, Met) equal to the control diet and two others were supplemented to an ex-

Table 2. Ingredient composition of experimental diets (g/kg as fed).

Ingredients/Diets	Starter period (10 - 20 d)					Grower period (25 - 35 d)				
	Control	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM (AA)	Control	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM (AA)
Wheat	328.8	416.9	449.6	408.9	442.6	375.8	455.5	493.5	449.7	488.6
Corn	164.4	208.5	224.8	204.5	221.3	187.9	227.7	246.7	224.8	244.3
Soybean meal	390	-	-	-	-	320	-	-	-	-
Spirulina meal	-	-	210	-	210	-	-	170	-	170
Hermetia meal	-	260	-	260	-	-	220	-	220	-
Soybean oil	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	65	55	65	55
Premix*	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
DCP 40	11	12	13	12	13	10	8	11	8	11
CaCO ₃	11	9.1	9.1	9.1	9.1	9	7	7	7	7
NaCl	3	1.7	1.7	1.7	1.7	3	1	1	1	1
Wheat starch	-	-	-	-	-	3	3	3	3	3
L-Lysine-HCl	1.3	1.3	1.3	4.7	7.0	0.8	0.8	0.8	3.3	5.5
DL-Methionine	2.0	2.0	2.0	4.7	3.6	2.0	2.0	2.0	3.3	2.5
L-Threonine	-	-	-	1.2	-	-	-	-	0.7	-
L-Arginine	-	-	-	4.8	2.2	-	-	-	3.3	1.4
L-Valine	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	0.3
L-Isoleucine	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-
L-Histidine	-	-	-	-	1.0	-	-	-	-	0.5

HM (A) = Hermetia meal with basic AA supply; SM (A) = Spirulina meal with basic AA supply; HM (AA) = Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA) = Spirulina meal with extended AA supply; *Added per kg of final diet: 2.1 g calcium, 0.8 g sodium, 5,000 IU vitamin A, 1000 IU vitamin D3, 30 mg vitamin E, 2.6 mg vitamin B1, 4.8 mg vitamin B2, 3.2 mg vitamin B6, 20 µg vitamin B12, 3 mg vitamin K3, 50 mg nicotinic acid, 10 mg calcium pantothenate, 0.9 mg folic acid, 100 µg biotin, 1000 mg choline chloride, 50 mg Fe as iron-II-sulfate, monohydrate, 15 mg Cu as copper-II-sulfate, pentahydrate, 120 mg Mn as manganese-II-oxide, 70 mg Zn as zinc oxide, 1.4 mg I as calcium iodate, hexahydrate, 0.28 mg Se as sodium selenite, 0.55 mg Co as alkaline cobalt-II-carbonate, monohydrate and 100 mg butylhydroxytoluol.

tended level (e.g. Lys, Met, Arg, Thr, Val, Ile, His) according to current recommendations [29] to meet an ideal AA ratio (IAAR).

Feed was offered twice a day (08:00 and 20:00 h). At the beginning of the adaptation period, feed was supplied on free choice level to quantity the individual feed intake. During N balance studies, birds were slightly feed-restricted to minimize spillage. The individual feed supply was kept near to free choice level beginning at third day of adaptation period. Further adaptation of feed supply was necessary due to the fast growing birds. Further standardization of the protein quality parameters (see 2.6) ensured that the effect of varying feed intake did not impact on the derived protein quality data. Nutrient composition of the diets as analyzed is summarized in **Table 3**.

Table 3. Analyzed nutrient content of experimental diets.

Diets	Starter period (10 - 20 d)					Grower period (25 - 35 d)				
	Control	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM (AA)	Control	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM (AA)
Crude nutrients (g/kgDM)										
Crude protein	249.5	244.4	212.9	248.9	225.5	222.9	219.9	203.3	241.4	202.3
Ether extract	111.6	146.9	117.7	142.6	119.6	118.3	118.0	93.0	120.2	87.8
Crude fibre	45.2	44.5	22.2	44.4	22.7	45.7	42.0	19.4	40.2	20.1
Crude ash	65.6	57.6	51.9	55.3	52.7	60.6	49.3	47.3	50.5	45.2
N-free extract	528.1	506.6	595.3	508.8	579.5	552.5	570.8	637.0	547.7	644.6
Amino acids (g/kg as-fed)*										
AME _N (MJ/kgDM)**	14.4	16.1	16.3	16.1	16.3	14.8	16.0	15.9	16.0	15.9
Lys	12.6	11.0	7.4	13.6	11.8	10.5	9.5	6.4	11.4	10.0
Met	4.9	4.8	5.1	7.5	6.7	4.6	4.6	4.8	5.9	5.3
Met + Cys	8.4	7.4	7.5	10.1	9.1	7.9	7.2	7.2	8.4	7.7
Thr	7.8	7.3	7.2	8.5	7.2	6.9	6.7	6.4	7.3	6.4
Arg	14.3	9.0	10.9	13.7	13.1	12.4	8.3	9.7	11.6	11.1
Val	9.3	10.7	9.6	10.6	9.6	8.3	9.7	8.6	10.1	8.8
Leu	16.1	14.4	14.6	14.3	14.6	14.5	13.4	13.4	13.3	13.3
Ile	8.8	7.8	8.1	7.8	8.0	7.8	7.1	7.1	7.5	7.1
His	5.4	5.6	3.1	5.6	4.0	4.8	5.1	3.0	5.1	3.4

HM (A) = Hermetia meal with basic AA supply; SM (A) = Spirulina meal with basic AA supply; HM (AA) = Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA) = Spirulina meal with extended AA supply; *Derived from analyzed AA content of the ingredients; **N corrected apparent metabolizable energy, calculated according to WPSA [30].

2.4. Collection and Sampling

Birds were individually weighed at the beginning of the adaption period, as well as at the beginning and the end of the corresponding collection periods. The feed intake was recorded daily. During the morning and afternoon feedings, excreta samples were collected, amounting to two samples per day in two consecutive collection periods of 5 days each (n = 14). Prior to excreta handling, feathers and spilled feed pellets were carefully removed from the samples. Spilled feed was quantified for correction of daily feed intake. Excreta were immediately frozen and stored at -20°C until further analyses.

2.5. Laboratory Analyses

Dietary ingredients, experimental diets and excreta were analyzed according to the German VDLUFA standards [31]. In short, the feed ingredients and feed mixtures were ground to 1 mm. Excreta were carefully defrosted and thoroughly

homogenized for chemical analysis (DM, N). Nitrogen content of feed and excreta was measured by the Dumas method (TruMac®, Leco Instrument GmbH, Moenchengladbach, Germany) and fraction CP was calculated with a factor of 6.25. The given AA contents of the final diets are based on the analyzed AA contents of the single protein sources. AA composition of the protein sources was detected by ion-exchange chromatography (Biochrom® 30, Biochrom Ltd. Cambridge, England) using acid hydrolysis without and with an oxidation step for quantitative determination of sulphur-containing amino acids. According to the German standards [31], ether extracts were analyzed following HCl hydrolysis of the feed samples.

2.6. Nitrogen Balance Data

N balance data assessment was conducted according to current applications of the “Goettingen approach” [32]-[37] making use of the exponential N utilization model created by Gebhardt [38]. The basic function is an expression of body N retention dependent on N intake and feed protein quality, respectively:

$$NR = NR_{\max} T (1 - e^{-b \cdot NI}) \quad (1)$$

$$ND = NR_{\max} T (1 - e^{-b \cdot NI}) - NMR \quad (2)$$

whereby

NR = daily N retention (ND+NMR) [mg/BW_{kg}^{0.67}]

ND = daily N deposition or N balance [mg/BW_{kg}^{0.67}]

NMR = daily N maintenance requirement [mg/BW_{kg}^{0.67}]

NR_{max}T = theoretical maximum for daily N retention [mg/BW_{kg}^{0.67}]

b = model parameter for the slope of the function between NI and NR, depending on the dietary protein quality

NI = daily N intake [mg/BW_{kg}^{0.67}]

e = basic number of natural logarithm [ln]

The genotype dependent model parameters for daily NMR (240 mg/BW_{kg}^{0.67}) and NR_{max}T (4240 mg/BW_{kg}^{0.67} and 3440 mg/BW_{kg}^{0.67} for starter and grower period, respectively) were taken from earlier experiments where the same genotype was under study [39]. According to several recent reports [29] [32]-[37] [39] [40] [41] [42] [43], the dietary protein quality was evaluated by parameter (b) based on following equation:

$$b = \frac{\left[\ln NR_{\max} T - \ln (NR_{\max} T - NR) \right]}{NI} \quad (3)$$

Equation (3) is the result of logarithmization and transformation of Equation (1). Additionally, traditional parameters like the productive protein value (PPV) and net protein utilization (NPU) were applied to evaluate the complex dietary protein quality by taking into account the processes involved in digestion and post-absorptive utilization.

$$PPV (\%) = \frac{ND}{NI} \quad (4)$$

$$\text{NPU}(\%) = \frac{\text{NR}}{\text{NI}} \quad (5)$$

However, the traditional protein quality measures are not independent of the level of actual protein intake [44] [45] [46]. Consequently, a standardization of protein intake was conducted according to Thong and Liebert [45], providing NPU data which are independent of NI [42] [45] [46] [47] [48].

Accordingly, standardized net protein utilization (NPU_{std}) was calculated (Equation (6)) for equal daily nitrogen intake (NI_{std} : 3000 mg/BW_{kg}^{0.67}) to ensure the comparability of derived NPU data:

$$\text{NPU}_{\text{std}}(\%) = \frac{\text{NR}_{\text{max}} \text{T}(1 - e^{-b \cdot \text{NI}_{\text{std}}})}{\text{NI}_{\text{std}}} \cdot 100 \quad (6)$$

Therefore, as according to Equation (6), protein utilization (NPU_{std}) is the parameter of importance in this study, where the original parameter “b” as derived from the N balance data according to Equation (3) is included in Equation (6) [45].

2.7. Statistical Analyses

Statistical analyses were conducted with SPSS software package (IBM SPSS Statistics, Version 24.0) and results are presented as means \pm standard deviation. One-way analysis of variance (ANOVA) tests were performed to compare means of the primary N balance data. To verify the variance homogeneity and identification of significant differences ($p \leq 0.05$) the Games-Howell and Tukey tests were applied.

3. Results

The results of the N balance trials are summarized in **Table 4**. In the starter period, both the HM (A) and SM (A) diets, with just the basic level of AA supplementation, yielded significantly lower body weights (BW) and feed intake rates (DM intake) as compared to the control diet. Accordingly, the lowest daily N balance was observed for the SM (A) diet and the HM (A) N balance was significantly higher than the SM (A) group; yet both groups remained significantly below the control diet. In contrast, the extended AA supplementation diets HM (AA) and SM (AA) appeared to be able to compensate for these observed depressions of body weight and feed intake, as the values did not differ from those of the control group. In addition, the N balance data showed similar conclusions. Generally, the SM (AA) and HM (AA) diets yielded results similar to the control diet, although the HM (AA) diet did provide superior, but insignificant, results compared to the control group in the starter period. As well, the HM (AA) diet led to a significantly ($p < 0.05$) higher daily N balance than the SM (AA) group.

During the grower period, HM (A) and SM (A) diets again yielded significantly lower body weights and feed intake rates as compared to the control diet. Accordingly, the lowest daily N balance was obtained feeding the SM (A) diet,

Table 4. Summarized results of the N balance experiments in starter and grower period of growing meat type chicken.

Diets	Control	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM (AA)
Starter period (10 - 20 d)					
n	14	14	14	14	14
Mean BW (g)	407 ^c ± 124	201 ^b ± 53	138 ^a ± 44	417 ^c ± 134	340 ^c ± 105
DM intake (g/d)	49.1 ^b ± 13.1	21.9 ^a ± 8.8	14.3 ^a ± 10.1	52.0 ^b ± 13.6	45.2 ^b ± 10.5
N intake (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	3572 ^c ± 277	2461 ^b ± 610	1740 ^a ± 784	3884 ^c ± 277	3406 ^c ± 328
N excretion (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	1108 ^{ab} ± 146	1099 ^{ab} ± 350	844 ^a ± 440	1333 ^b ± 186	1203 ^b ± 156
N balance (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	2463 ^{cd} ± 163	1361 ^b ± 308	896 ^a ± 375	2550 ^d ± 140	2203 ^c ± 225
Grower period (25 - 35 d)					
n	14	14	14	14	14
Mean BW (g)	952 ^b ± 228	762 ^b ± 150	564 ^a ± 83	895 ^b ± 173	925 ^b ± 202
DM intake (g/d)	93.7 ^c ± 19.7	66.6 ^b ± 16.3	41.8 ^a ± 8.4	81.3 ^{bc} ± 15.5	98.8 ^c ± 18.5
N intake (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	3473 ^c ± 245	2869 ^b ± 366	1937 ^a ± 240	3310 ^c ± 273	3442 ^c ± 288
N excretion (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	1220 ^b ± 110	1299 ^b ± 189	979 ^a ± 175	1298 ^b ± 120	1274 ^b ± 142
N balance (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	2252 ^d ± 166	1569 ^b ± 212	957 ^a ± 89	2012 ^c ± 207	2168 ^{cd} ± 187

HM (A) = Hermetia meal with basic AA supply; SM (A) = Spirulina meal with basic AA supply; HM (AA) = Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA) = Spirulina meal with extended AA supply; ^{a-d}values within a row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

and similar to the starter period the HM (A) diet yielded a significantly higher daily N balance. As expected, the extended AA supplementation diets, HM (AA) and SM (AA) provided body weights and feed intake rates, similar to that of the control group. Daily N balances data responded accordingly; however, the control diet still achieved the highest daily N balance. This result is likely influenced by the level of N intake. Consequently, a final discussion of the results needs standardized data for N intake.

As demonstrated in **Table 5**, the N utilization parameters from both age periods deliver a similar trend to that observed in **Table 4**; that is the basic AA supplemented diets are inferior compared to the extended supplemented and control diets. As expected in the starter period, the HM (A) and SM (A) diets resulted in significantly lower PPV and NPU. However, both of these parameters are influenced by the level of N intake. Results for PPV and NPU data were significantly improved with the HM (AA) and SM (AA) diets. However, the control diet yielded higher PPV and NPU data, except the HM (AA) diet in the grower period. However, as already mentioned traditional parameters of protein utilization are also influenced by the level of N intake. When NPU is standardized (NPU_{std}), the results of comparison are modified. In this case, no significant difference was observed between the control and HM (AA) diet; though, the difference between the HM (AA) and control diets become significantly different from the SM (AA) diet.

Table 5. N utilization parameters of growing meat type chicken as derived from N balance data in starter and grower period.

Diets	Control	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM (AA)
Starter period (10 - 20 d)					
n	14	14	14	14	14
PPV (%)	69.1 ^c ± 2.2	55.7 ^a ± 5.7	51.9 ^a ± 7.1	65.8 ^b ± 2.9	64.7 ^b ± 2.8
NPU (%)	75.8 ^c ± 2.5	65.9 ^a ± 6.4	67.6 ^{ab} ± 8.5	72.0 ^b ± 3.3	71.8 ^b ± 2.9
Model parameter b (×10 ⁻⁶) [*]	285 ^c ± 14	196 ^a ± 21	186 ^a ± 21	278 ^c ± 16	253 ^b ± 19
NPU_{std} (%)**	81.2^c ± 2.5	62.6^a ± 4.6	60.2^a ± 5.1	79.8^c ± 2.8	75.2^b ± 3.7
Grower period (25 - 35 d)					
n	14	14	14	14	14
PPV (%)	64.9 ^d ± 1.8	54.7 ^b ± 2.7	49.8 ^a ± 4.2	60.7 ^c ± 2.7	63.0 ^{cd} ± 2.2
NPU (%)	71.8 ^c ± 1.9	63.2 ^a ± 2.9	62.4 ^a ± 5.7	68.0 ^b ± 2.6	70.0 ^{bc} ± 2.4
Model parameter b (×10 ⁻⁶) [*]	374 ^d ± 28	262 ^b ± 20	223 ^a ± 19	324 ^c ± 31	353 ^d ± 30
NPU_{std} (%)**	77.2^d ± 3.1	62.3^b ± 3.0	55.8^a ± 3.3	71.1^c ± 4.1	74.7^{cd} ± 3.5

HM (A) = Hermetia meal with basic AA supply; SM (A) = Spirulina meal with basic AA supply; HM (AA) = Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA) = Spirulina meal with extended AA supply; ^{*}Applied for NPU standardization based on: NMR = 240 mg/BW_{kg}^{0.67}/d; NR_{max}T starter: = 4240 mg/BW_{kg}^{0.67}/d, NR_{max}T grower: = 3440 mg/BW_{kg}^{0.67}/d; ^{**}Standardized daily N intake = 3000 mg/BW_{kg}^{0.67}; ^{a-d}values within a row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

During the grower period, a similar ranking to that in the starter period was observed for diets HM (A) and SM (A). Accordingly, the extended AA supplementation in the HM (AA) and SM (AA) diets yielded superior N utilization as to the basic supplemented diets. The control and SM (AA) diets generated superior results for PPV and NPU and were not significantly different from one another. In addition, no significant difference was found between diets HM (AA) and SM (AA) in the grower period. Standardization of NPU data did not influence the comparison significantly; nonetheless, due to variation of N intake the difference between diets SM (A) and HM (A) became more pronounced (Table 4). Additionally, in contrast to the starter period diet HM (AA) yielded significantly lower NPU_{std} as compared to the control diet.

Generally, extended AA supplementation of both diets containing alternative protein sources improved dietary protein quality significantly. Misleading conclusions about dietary protein quality are prevented by the standardization of NPU data as described, and therefore, the discussion of dietary effects on achieved protein quality will only focus on NPU_{std} data.

4. Discussion

The general conclusion of this study is that partly defatted insect meal from *Hermetia illucens* (HM) larvae or the microalgae *Spirulina platensis* (SM) at inclusion rates of 26%/22% (starter/grower HM) or 21%/17% (starter/grower SM)

are acceptable in growing chicken diets when completely replacing SBM. The complete substitution of SBM was conducted to demonstrate the potential, but also the limitations, of the alternative proteins under study. In this context, we aimed to quantify the effects of extreme inclusion rates on the parameters of dietary protein quality in chicken diets by means of N balance studies.

Given these aims, we came to the conclusion that while feeding alternative protein sources with an AA supplementation level equal to that of the SBM control diet, a significant depression of feed protein quality was observed independent of the alternative protein source. These observations are in agreement with Austic *et al.* [13] who demonstrated that growing chickens grew slower (0-3 weeks of age) and had lower feed efficiency (0 - 6 weeks of age) when SBM was partly substituted by 7.5% *Staurosira* sp. at a basic level of AA supplementation. However, diets with 7.5% of the algae meal and supplemented with an extended level of essential AAs (Met, Lys, Arg, Ile, Thr, Trp, Val) yielded performance data equivalent to the control diet. Other studies [8] [49] have demonstrated that Spirulina meal fed birds reduced their feed intake in the starter period, but to a lower extent in the grower period [8]. This trend was supported by the current protein quality evaluation indicating that an age-related scenario is possible. Oluokun [20] also studied diets with HM as related to full-fat soybean meal diets and observed higher growth rates for HM meal diets, which match with our results in the starter period. Furthermore, Elwert *et al.* [23] reported similar results for starter chickens (1 - 10 d). In their study, the experimental diet, which included 4.7% HM with a fat content of 15% and the AA supplementation of Lys and Met, yielded no differences in body weight and feed intake compared to the soybean control treatment.

Looking more closely at the NPU_{std} as protein quality parameter that is independent of variation in N intake, significantly lower protein quality during starter period was observed for the SM (AA) diet as compared to the control and HM (AA) diet. In contrast, during the grower period superior protein quality was observed for the SM (AA) diet and the results are not significantly different from the control diet. These conflicting results need further attention and are the focus of ongoing studies. However, the achieved dietary AA balance following extended AA supplementation is a factor of influence. Actual AA supplementation aimed to meet the current IAAR assumption according to Wecke and Liebert [29]. However, negative impacts of an individual AA excess on N utilization parameters cannot be excluded. Further investigation into the optimization of the dietary AA balance in chicken diets with an elevated inclusion level of alternative protein sources and feed AAs needs to remain a main priority.

Comparing the two alternative protein sources, it can be summarized that diets with HM tended to provide higher dietary protein quality as compared to the SM diets at both levels of AA supplementation. Nonetheless, both of the two alternative protein sources appear to be good candidates for replacing SBM, when the appropriate AA supplementation levels are considered.

5. Conclusions

Complete replacement of SBM by partly defatted *Hermetia* meal or *Spirulina* meal in chicken diets depressed dietary protein quality with only a basic level of AA supplementation. However, with an extended level of AA supplementation observed protein quality parameters of diets with both of the alternative proteins were significantly improved, but not generally on par with the control diet. This important response became more evident when the well-known effect of N intake on protein utilization was eliminated through the standardization of N intake by adequate model application. Both partly defatted *Hermetia illucens* and algae meal of *Spirulina platensis* are promising alternative protein sources in chicken diets when the dietary AA balance is well adapted to the IAAR through an enlarged range of supplemented feed AAs.

On this note, ongoing research to further optimize the dietary AA balance when 100% SBM is substituted by alternative proteins should remain a key priority.

References

- [1] FAO (2013) Edible Insects—Future Prospects for Food and Feed Security. FAO Forestry Paper No. 171, FAO, Rome.
- [2] Fischer, R.A., Byerlee, D. and Edmeades, G.O. (2014) Crop Yields and Global Food Security. Will Yield Increase Continue to Feed the World? ACIAR Monograph No. 158. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, xxii-634.
- [3] Finke, M.D. (2002) Complete Nutrient Composition of Commercially Raised Invertebrates Used as Food for Insectivores. *Zoo Biology*, **21**, 269-285. <https://doi.org/10.1002/zoo.10031>
- [4] Finke, M.D. (2004) Nutrient Content of Insects—Organic Value Recovery Solution Studies. Encyclopedia of Entomology No. 10.1007/0-306-48380-7_2920, Springer Verlag. https://doi.org/10.1007/0-306-48380-7_2920
- [5] Finke, M.D. (2013) Complete Nutrient Content of Four Species of Feeder Insects. *Zoo Biology*, **32**, 27-36. <https://doi.org/10.1002/zoo.21012>
- [6] Van Huis, A. (2013) Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annual Review of Entomology*, **58**, 563-583. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>
- [7] Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V. and Ankers, P. (2014) State-of-the-Art on Use of Insects as Animal Feed. *Animal Feed Science and Technology*, **197**, 1-33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>
- [8] Bellof, G. and Carrasco Alarcon, L.S. (2013) Effect of *Spirulina platensis* in Organic Broiler Production. Einsatz der Mikroalge *Spirulina platensis* in der ökologischen Broilermast. *Archiv für Geflügelkunde*, **77**, 73-80.
- [9] Gongnet, G.P., Niess, E., Rodehutschord, M. and Pfeffer, E. (2001) Algae-Meal (*Spirulina platensis*) from Lake Chad Replacing Soybean-Meal in Broiler Diets. *Archiv für Geflügelkunde*, **65**, 265-268.
- [10] Yoshida, M. and Hoshii, H. (1980) Nutritive Value of *Spirulina*, Green Algae, for Poultry Feed. *Japanese Poultry Science*, **17**, 27-30. <https://doi.org/10.2141/jpsa.17.27>
- [11] Ross, E. and Dominy, W. (1990) The Nutritional Value of Dehydrated, Blue-Green Algae (*Spirulina platensis*) for Poultry. *Poultry Science*, **69**, 794-800.

- <https://doi.org/10.3382/ps.0690794>
- [12] Evans, A.M., Smith, D.L. and Moritz, J.S. (2015) Effects of Algae Incorporation into Broiler Starter Diet Formulations on Nutrient Digestibility and 3 to 21 d Bird Performance. *Journal of Applied Poultry Research*, **24**, 206-214.
<https://doi.org/10.3382/japr/pfv027>
- [13] Austic, R.E., Mustafa, A., Jung, B., Gatrell, S. and Lei, X.G. (2013) Potential and Limitation of a New Defatted Diatom Microalgal Biomass in Replacing Soybean Meal and Corn in Diets for Broiler Chickens. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **61**, 7341-7348. <https://doi.org/10.1021/jf401957z>
- [14] Hwangbo, J., Hong, E.C., Jang, A., Kang, H.K., Oh, J.S., Kim, B.W. and Park, B.S. (2009) Utilization of House Fly-Maggots, a Feed Supplement in the Production of Broiler Chickens. *Journal of Environmental Biology*, **30**, 609-614.
- [15] Bovera, F., Piccolo, G., Gasco, L., Marono, S., Loponte, R., Vassalotti, G., Mastellone, V., Lombardi, P., Atti, Y.A. and Nizza, A. (2015) Yellow Mealworm Larvae (*Tenebrio molitor*, L.) as a Possible Alternative to Soybean Meal in Broiler Diets. *British Poultry Science*, **56**, 569-575.
<https://doi.org/10.1080/00071668.2015.1080815>
- [16] Adeniji, A.A. (2007) Effect of Replacing Groundnut Cake with Maggot Meal in the Diet of Broilers. *International Journal of Poultry Science*, **6**, 822-825.
<https://doi.org/10.3923/ijps.2007.822.825>
- [17] Tèguia, A., Mpoame, M. and Mba, J.A.O. (2002) The Production Performance of Broiler Birds as Affected by the Replacement of Fish Meal by Maggot Meal in the Starter and Finisher Diets. *Tropicultura*, **20**, 187-192.
- [18] Agunbiade, J.A., Adeyemi, O.A., Ashiru, O.M., Awojobi, H.A., Taiwo, A.A., Oke, D.B. and Adekunmisi, A.A. (2007) Replacement of Fish Meal with Maggot Meal in Cassava-Based Layers' Diets. *The Journal of Poultry Science*, **44**, 278-282.
<https://doi.org/10.2141/jpsa.44.278>
- [19] Pretorius, Q. (2011) The Evaluation of Larvae of *Musca domestica* (Common House Fly) as Protein Source for Broiler Production. Ph.D. Dissertation, University of Stellenbosch, South Africa.
- [20] Oluokun, J.A. (2000) Upgrading the Nutritive Value of Full-Fat Soybeans Meal for Broiler Production with Either Fishmeal or Black Soldier Fly Larvae Meal (*Hermetia illucens*). *Nigerian Journal of Animal Science*, **3**.
- [21] Tran, G., Heuzé, V. and Makkar, H.P.S. (2015) Insects in Fish Diets. *Animal Frontiers*, **5**, 37-44.
- [22] De Marco, M., Sartínez, S., Hernandez, F., Madrid, J., Gai, F., Rotolo, L., Belforti, M., Bergero, D., Katz, H., Dabbou, S., Kovitvadhi, A., Zoccarato, I., Gasco, L. and Schiavone, A. (2015) Nutritional Value of Two Insect Larvae Meals (*Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*) for Broiler Chickens: Apparent Nutrient Digestibility, Apparent Ileal Amino Acid Digestibility and Apparent Metabolizable Energy. *Animal Feed Science and Technology*, **209**, 211-218.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.006>
- [23] Elwert, C., Knips, I. and Katz, H. (2010) A Novel Protein Source: Maggot Meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) in Broiler Feed. In: Gierus, M., Kluth, H., Bulang, M. and Kluge, H., Eds., 11. *Tagung Schweine und Geflügelernährung*, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Universität Halle Wittenberg, 140-142.
- [24] Maurer, V., Holinger, M., Amsler, Z., Früh, B., Wohlfahrt, J., Stamer, A. and Leiber, F. (2015) Replacement of Soybean Cake by *Hermetia illucens* Meal in Diets for Lay-

- ers. *Journal of Insects as Food and Feed*, **2**, 83-90.
<https://doi.org/10.3920/JIFF2015.0071>
- [25] Schiavone, A., De Marco, M., Rotolo, L., Belforti, M., Martinez Mirò, S., Madrid Sanchez, J., Hernandez Ruiperez, F., Bianchi, C., Sterpone, L., Malfatto, V., Katz, H., Zoccarato, I., Gai, F. and Gasco, L. (2014) Nutrient Digestibility of *Hermetia illucens* and *Tenebrio molitor* Meal in Broiler Chickens. *Proceedings of the 1st International Conference Insects to Feed the World*, Wageningen, 73.
- [26] Vantomme, P. (2015) Way Forward to Bring Insects in the Human Food Chain. *Journal of Insects as Food and Feed*, **1**, 121-129.
<https://doi.org/10.3920/JIFF2014.0014>
- [27] Commission Regulation (EU) 2017/893 (2017) Official Journal of the European Union of 24 May 2017 Amending Annex I and IV to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council and Annexes X, XIV and XV to Commission Regulation (EU) No 142/2011 as Regards the Provisions on Processed Animal Protein. L 138/92-L138/116.
- [28] Aviagen (2014) Ross Broiler Management Handbook.
http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-Broiler-Handbook-2014i-EN.pdf
- [29] Wecke, C. and Liebert, F. (2013) Improving the Reliability of Optimal In-Feed Amino Acid Ratios Based on Individual Amino Acid Efficiency Data from N Balance Studies in Growing Chicken. *Animals*, **3**, 558-573.
<https://doi.org/10.3390/ani3030558>
- [30] WPSA (1984) The Prediction of Apparent Metabolizable Energy Values for Poultry in Compound Feeds. *World's Poultry Science Journal*, **40**, 181-182.
- [31] Naumann, C. and Bassler, R. (1976-2004) Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch, Volume III, VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany.
- [32] Samadi and Liebert, F. (2007) Lysine Requirement of Fast Growing Chickens—Effects of Age, Sex, Level of Protein Deposition and Dietary Lysine Efficiency. *The Journal of Poultry Science*, **44**, 63-72. <https://doi.org/10.2141/jpsa.44.63>
- [33] Samadi and Liebert, F. (2007) Threonine Requirement of Slow-Growing Male Chickens Depends on Age and Dietary Efficiency of Threonine Utilization. *Poultry Science*, **86**, 1140-1148.
- [34] Liebert, F. (2008) Modelling of Protein Metabolism Yields Amino Acid Requirements Dependent on Dietary Amino Acid Efficiency, Growth Response, Genotype and Age of Growing Chicken. *Avian Biology Research*, **1**, 101-110.
<https://doi.org/10.3184/175815508X388074>
- [35] Liebert, F. (2015) Basics and Applications of an Exponential Nitrogen Utilization Model (“Goettingen Approach”) for Assessing Amino Acid Requirements in Growing Pigs and Meat Type Chickens Based on Dietary Amino Acid Efficiency. In: Sakomura, N.K., Gous, R., Kyriazakis, I. and Hauschild, L., Eds., *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry*, CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, 73-87.
<https://doi.org/10.1079/9781780644110.0073>
- [36] Liebert, F. (2017) Invited Review: Further Progress Is Needed in Procedures for the Biological Evaluation of Dietary Protein Quality in Pig and Poultry Feeds. *Archives Animal Breeding*, **60**, 259-270. <https://doi.org/10.5194/aab-60-259-2017>
- [37] Samadi, Wecke, C., Pastor, A. and Liebert, F. (2017) Assessing Lysine Requirement of Growing Chicken by Direct Comparison between Supplementation Technique and “Goettingen Approach”. *Open Journal of Animal Science*, **7**, 56-69.
<https://doi.org/10.4236/ojas.2017.71006>

- [38] Gebhardt, G. (1966) Die Bewertung der Eiweißqualität von Nahrungs- und Futtermitteln mit Hilfe des N-Bilanzversuches. In: Hock, A., Ed., *Vergleichende Ernährungslehre des Menschen und seiner Haustiere*, Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany, 323-348.
- [39] Wecke, C., Pastor, A. and Liebert, F. (2016) Validation of the Lysine Requirement as Reference Amino Acid for Ideal In-Feed Amino Acid Ratios in Modern Fast Growing Meat-Type Chickens. *Open Journal of Animal Science*, **6**, 185-194. <https://doi.org/10.4236/ojas.2016.63024>
- [40] Kahn, D.R., Wecke, C. and Liebert, F. (2015) An Elevated Dietary Cysteine to Methionine Ratio Does Not Impact on Dietary Methionine Efficiency and the Derived Optimal Methionine to Lysine Ratio in Diets for Meat Type Chicken. *Open Journal of Animal Science*, **5**, 457-466. <https://doi.org/10.4236/ojas.2015.54047>
- [41] Khan, D.R., Wecke, C. and Liebert, F. (2015) Does the Naked Neck Meat Type Chicken Yield Lower Methionine Requirement Data? *Animals*, **5**, 151-160. <https://doi.org/10.3390/ani5020151>
- [42] Pastor, A., Wecke, C. and Liebert, F. (2013) Assessing the Age-Dependent Optimal Dietary Branched-Chain Amino Acid Ratio in Growing Chicken by Application of a Nonlinear Modeling Procedure. *Poultry Science*, **92**, 3184-3195. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03340>
- [43] De Paula Dorigam, J.C., Sakomura, N.K., Soares, L., Fernandes, J.B.K., Sünder, A. and Liebert, F. (2017) Modelling of Lysine Requirement in Broiler Breeder Hens Based on Daily Nitrogen Retention and Efficiency of Dietary Lysine Utilization. *Animal Feed Science and Technology*, **226**, 29-38. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.12.003>
- [44] Block, R.J. and Mitchell H.H. (1946) The Correlation of Amino Acid Composition of Proteins with Their Nutritive Value. *Nutrition Abstracts & Reviews*, **16**, 249-278.
- [45] Thong, H.T. and Liebert, F. (2004) Potential for Protein Deposition and Threonine Requirement of Modern Genotype Barrows Fed Graded Levels of Protein with Threonine as Limiting Amino Acid. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **88**, 196-203. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2004.00457.x>
- [46] Wecke, C. and Liebert, F. (2009) Lysine Requirement Studies in Modern Genotype Barrows Dependent on Age, Protein Deposition and Dietary Lysine Efficiency. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **93**, 295-304. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2009.00923.x>
- [47] Farke, J. (2011) Studien zur Aminosäurenwirksamkeit beim Mastgeflügel unter spezifischer Betrachtung der schwefelhaltigen Aminosäuren. Ph.D. Dissertation, Tierernährungsphysiologie, Georg-August-Universität, Göttingen, Germany.
- [48] Pastor, A. (2014) Studien zur Aminosäurenwirksamkeit beim Mastgeflügel unter spezifischer Betrachtung der verzweigt-kettigen Aminosäuren. Ph.D. Dissertation, Tierernährungsphysiologie, Georg-August-Universität, Göttingen, Germany.
- [49] Brune, H. (1982) Single Cell Algae *Spirulina maxima* and *Scenedesmus acutus* as Single Protein Source for Broiler. Zur Verträglichkeit der Einzelleralgen *Spirulina maxima* und *Scenedesmus acutus* als alleinige Eiweißquelle für Broiler. *Zeitschrift für Tierphysiologie Tierernährung und Futtermittelkunde*, **48**, 143-154. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1982.tb01384.x>

13.2 Publikation 2

The Graded Inclusion of Algae (*Spirulina platensis*) or Insect (*Hermetia illucens*) Meal as a Soybean Meal Substitute in Meat Type Chicken Diets Impacts Growth, Nutrient Deposition and Dietary Protein Quality Depending on the Extent of Amino Acid Supplementation

von

Neumann, C., Velten, S. und Liebert, F.

2018 *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 163-183

<https://doi.org/10.4236/ojas.2018.82012>

The Graded Inclusion of Algae (*Spirulina platensis*) or Insect (*Hermetia illucens*) Meal as a Soybean Meal Substitute in Meat Type Chicken Diets Impacts on Growth, Nutrient Deposition and Dietary Protein Quality Depending on the Extent of Amino Acid Supplementation

Carmen Neumann, Susanne Velten, Frank Liebert

Department of Animal Sciences, Division Animal Nutrition Physiology, Georg-August-University of Goettingen, Goettingen, Germany

Email: flieber@gwdg.de

How to cite this paper: Neumann, C., Velten, S. and Liebert, F. (2018) The Graded Inclusion of Algae (*Spirulina platensis*) or Insect (*Hermetia illucens*) Meal as a Soybean Meal Substitute in Meat Type Chicken Diets Impacts on Growth, Nutrient Deposition and Dietary Protein Quality Depending on the Extent of Amino Acid Supplementation. *Open Journal of Animal Sciences*, 8, 163-183.

<https://doi.org/10.4236/ojas.2018.82012>

Received: March 1, 2018

Accepted: April 20, 2018

Published: April 24, 2018

Copyright © 2018 by authors and Scientific Research Publishing Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Three consecutive growth experiments were conducted to evaluate growth performance, whole body analyses and protein quality parameters from chicken diets with 50%, 75% and 100% substitution of soybean meal (SBM) by Spirulina meal (SM) or partly defatted Hermetia meal (HM). Each of the experiments was divided into a starter period (1 - 21 d) and a grower period (22 - 34 d). One-day-old male growing chickens (Ross 308) were randomly allotted to 48 floor pens making use of 6 birds/pen (Exp.1) or 7 birds/pen (Exp. 2, 3), and the experiments included a control diet (n = 12) and four experimental diets (n = 9). Experiment 1 examined a 50 % replacement of SBM by the alternative proteins under study, both on a basic and an advanced level of amino acid (AA) fortification to meet the recommended ideal amino acid ratio (IAAR). In experiment 2, 75% (starter diet) and 50% (grower diet) replacement of SBM was investigated. Experiment 3 investigated the effects of complete SBM substitution by SM or HM in starter and grower diets. In the second and third experiment diets with both of the alternative proteins and the control diet were AA supplemented to meet the current IAAR. In a further step, the calculated first limiting AA (LAA) was reduced to 80% of its requirement recommendation to allow for further evaluation of the individual AA efficiency according to the "Goettingen approach". Different levels (50%,

75%, or 100%) of replacing SBM by HM or SM in chicken diets depressed dietary protein quality ($p < 0.001$) and zoo-technical parameters ($p < 0.001$) with only a basic level of AA supplementation. This effect was much more pronounced in diets with SM. However, with an extended level of dietary AA supplementation zoo-technical parameters ($p < 0.001$), crude protein deposition ($p < 0.001$) and protein quality parameters ($p < 0.001$) were significantly improved. HM diets with an advanced level of AA tended to provide higher dietary protein quality and growth performance as compared to all SBM replacement levels through SM with different levels of AA supplementation and control diets.

Keywords

Growing Chickens, Amino Acids, N Utilization Model, Growth Performance, Body Analyses, Alternative Proteins, Feed Protein Quality

1. Introduction

Soybean meal (SBM) is currently the main protein and amino acid (AA) source to meet requirements in mixed diets for growing chickens. Yet, alternative proteins like insect or algae meals have moved into the focus of animal nutritionists, due to the limited acceptance of SBM imports from overseas in several European countries. Today, the blue-green alga *Spirulina platensis* and *Hermetia illucens* larvae meals are seen as adequate ingredients in poultry diets because of their high protein contents and additional supply of vitamins and minerals [1]-[7]. *Spirulina platensis* is a prokaryotic multicellular cyanobacterium. Spirulina algae belong to the photosynthetic organisms and grow only in warm climate and high light intensity. Natural environmental conditions are alkaline salt lakes as well as basic fresh waters. *Hermetia illucens* (black soldier fly) is a widespread fly and belongs to the family of *Stratiomyidae*, which is a member of the order *Diptera*. The larvae of *Hermetia* are able to utilize a wide range of nutrient sources and develop rapidly between 20°C - 30°C. Generally, both of the alternative proteins have the potential for SBM substitution. However, there are some notable limitations in the incorporation of Spirulina meal (SM). It has been demonstrated that elevated inclusion rates (20+%) of SM in chicken diets may yield decreased feed acceptance and growth depression, while 15% SM inclusion is well tolerated [8] [9]. The observed high variability in crude nutrients and AA composition of SM is one explanation for varying results [10]. On the other hand, numerous studies have reported the successful incorporation of insect meal in chicken diets. Oluokun [11] completely substituted full-fat soybeans by larvae meal from *Hermetia illucens* in broiler diets without negatively effecting growth performance. The feed conversion ratio (FCR) has even been significantly improved in 30-day-old male broilers through the complete replacement of SBM by non-defatted larvae of *Tenebrio molitor* [12]. Additionally, Hwangbo *et al.* [13]

reported higher growth performance and slaughter yield when SBM was replaced by 10% or 15% dried house fly larvae meal. At present, insect-based meals are not authorized for livestock and poultry feeds in Europe [14]. Nonetheless, the EU legislative barriers are expected to be overcome in the near future so that this promising protein source could be integrated into poultry diets, as was the case with aquafeed in 2017 [15]. As a part of the multidisciplinary project “Sustainability Transitions in the food chain” (Supported by the Lower Saxony Ministry of Science and Culture), the objective of this research focuses on replacing soybean meal (SBM) by partly defatted larvae meal from *Hermetia illucens* (HM) or blue-green micro algae *Spirulina platensis* (SM) in broiler diets. Both of the alternative protein sources have high protein contents and a balanced amino acid (AA) composition. The current experiments evaluate the potential of substituting 50%, 75% and 100% of SBM by either HM or SM in diets for meat type chickens during the entire fattening period (starter and grower periods). The effect of diet on zoo-technical parameters, whole body analyses and protein quality parameters were evaluated.

2. Materials and Methods

Three consecutive growth studies were conducted at the Division Animal Nutrition Physiology of Goettingen University and approved by the Ethics Committee of the Lower Saxony Federal Office for Consumer Protection and Food Safety (LAVES), Germany.

2.1. Alternative Protein Sources

The alternative protein sources under study were derived from two different batches of SM (SM1, SM2) and one batch of HM. SM1 was a sun dried commercial *Spirulina* source obtained from Myanmar and declared to be free of GMO, irradiation, pesticides, colorants, preservatives and additives. As demonstrated by the nutrient composition (Table 1), the lipid fraction was not extracted from the algae meal. The microcystine content was analyzed by an external laboratory (TeLA GmbH, Geestland, Germany) and remained under the detection limit. SM2 as applied in experiment 3 was a spray dried product (dried for 4 - 6 seconds at an inlet temperature of 180°C and outlet temperature of 75°C) obtained from China and also GMO free, non-irradiated and free of pesticides. SM2 was cultivated in plastic-lined ponds filled with a water culture. After harvesting, the *Spirulina* was rinsed, filtered and spray-dried. The batch of HM was provided from a commercial producer (Hermetia Futtermittel GbR, Baruth/Mark, Germany). Black soldier fly larvae were collected from a plant-based substrate (rye flour, wheat bran) after 20 days of fattening. Following 14 hours drying at temperatures between 65°C and 70°C, the larvae were partly defatted with a screw press (Type AP08, Reinartz) and afterwards ground into a meal. Nutrient contents of the protein sources are summarized in Table 1.

Table 1. Analyzed nutrient composition of alternative protein sources under study.

Nutrient content	Spirulina meal (SM) (Exp. 1 + 2)		Spirulina meal (SM) (Exp. 3)		Hermetia meal (HM)	
	mgAA/ gDM	gAA/ 16gN	mgAA/ gDM	gAA/ 16gN	mgAA/ gDM	gAA/ 16gN
Moisture (%)			3.4	8.0		5.5
Crude protein (% of DM)			58.8	68.9		60.8
Crude ash (% of DM)			6.1	9.1		7.5
Crude lipids (% of DM)			4.3	6.3		14.1
Crude fiber (% of DM)			0.49*	0.49*		10.92
Amino acid (AA) content	mgAA/ gDM	gAA/ 16gN	mgAA/ gDM	gAA/ 16gN	mgAA/ gDM	gAA/ 16gN
Lys	22.97	3.91	31.64	4.59	32.97	5.42
Met	10.61	1.81	14.09	2.05	7.53	1.24
Cys	4.53	0.77	6.49	0.94	4.89	0.80
Thr	25.77	4.39	30.93	4.49	21.70	3.57
Arg	39.92	6.79	52.14	7.57	25.05	4.12
Val	34.50	5.87	37.09	5.39	32.58	5.36
Leu	47.23	8.04	55.05	7.99	37.95	6.24
Ile	29.81	5.07	34.70	5.04	23.47	3.86
His	7.51	1.28	10.39	1.51	16.58	2.73

*preliminary result due to difficulties in application of the standard procedure.

2.2. Stock and Husbandry

Each of the experiments was divided into a starter period (1 - 21 d) and a grower period (22 - 34 d). One-day-old male growing chickens (Ross 308) were randomly allotted to 48 floor pens making use of 6 birds per pen (Exp.1) or 7 birds per pen (Exp. 2, 3). Average body weights (BW) per pen were similar at the start of each experiment. Under environmentally controlled conditions (temperature, monochromatic red light for 23 hours) birds were bedded on wood shavings and had unlimited access to feed and water. Experimental conditions were checked routinely, twice daily, paying special attention to feed and water supply, temperature and the state of birds' health. Growth data and feed consumption were recorded weekly.

2.3. Diets and Feeding

Each experiment included a control diet (n = 12) and four experimental diets (n = 9). Pelleted diets were manufactured at the facilities of the Division Animal Nutrition Physiology, Goettingen University, and fed at a free choice level. The control diets were based on wheat, corn and SBM as the main ingredients. Experiment 1 examined the 50 % replacement of SBM by the alternative proteins under study, both at a basic and an advanced level of AA fortification (**Table 2**). For the basic level (diets HM+ and SM+), Lys and Met supplementation was equal to the control diet. The advanced level of AA fortification (diets HM+AA

Table 2. Ingredient composition and analyzed nutrient content of starter and grower diets in experiment 1.

Diets	Starter diets 50% SBM replacement					Grower diets 50% SBM replacement				
	C	HM+	SM+	HM+AA	SM+AA	C	HM+	SM+	HM+AA	SM+AA
<i>Ingredients (g/kg as-fed)</i>										
Wheat	328.8	362.8	381.5	358.3	377.9	375.8	405.8	419.1	402.6	416.8
Corn	164.4	181.4	190.7	179.2	189.0	187.9	202.9	209.6	201.3	208.4
Soybean meal	390.0	195.0	195.0	195.0	195.0	320.0	160.0	160.0	160.0	160.0
Hermetia meal	-	145.4	-	145.4	-	-	119.0	-	119.0	-
Spirulina meal	-	-	118.2	-	118.2	-	-	97.0	-	97.0
Soybean oil	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5	78.5
Premix*	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
DCP 40	11.0	12.0	12.0	12.0	12.0	10.0	8.0	10.0	8.0	10.0
CaCO ₃	11.0	9.9	9.1	9.9	9.1	9.0	8.0	8.0	8.0	8.0
NaCl	3.0	1.7	1.7	1.7	1.7	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Wheat starch	-	-	-	-	-	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
L-Lysine-HCl	1.3	1.3	1.3	3.2	4.4	0.8	0.8	0.8	2.4	3.5
DL-Methionine	2.0	2.0	2.0	4.1	3.5	0.2	0.2	0.2	3.0	2.5
L-Threonine	-	-	-	0.6	-	-	-	-	0.4	-
L-Arginine	-	-	-	2.2	0.7	-	-	-	1.4	0.1
L-Valine	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	0.2
<i>Analyzed crude nutrients (g/kgDM)</i>										
Crude protein	249.5	249.6	236.4	259.3	241.4	220.2	217.7	207.4	230.9	207.2
Ether extract	111.6	124.3	115.7	131.1	116.6	112.8	110.7	117.4	131.4	118.4
AME _N (MJ/kgDM)**	14.4	15.2	15.4	15.3	15.4	14.8	15.5	15.6	15.6	15.6
<i>Amino acids (g/kg as-fed)***</i>										
Lys	12.6	12.2	10.2	13.7	12.7	10.5	10.2	8.6	11.5	10.7
Met	4.9	5.0	5.1	7.0	6.6	4.6	4.7	4.8	5.6	5.3
Met+Cys	8.4	8.1	8.1	10.1	9.6	7.9	7.6	7.6	8.5	8.1
Thr	7.8	7.9	7.8	8.4	7.8	6.9	6.9	6.9	7.3	6.9
Arg	14.3	12.0	13.0	14.1	13.7	12.4	10.5	11.4	11.9	11.5
Val	9.3	10.4	9.9	10.4	9.8	8.3	9.2	8.7	9.7	8.9
Leu	16.1	15.7	15.9	15.6	15.8	14.5	14.1	14.3	14.1	14.2
Ile	8.8	8.6	8.8	8.6	8.8	7.8	7.6	7.7	7.6	7.7
His	5.4	5.7	4.3	5.7	4.3	4.8	5.1	3.9	5.1	3.9

C = control; HM+ = HM with basic AA supply; SM+ = SM with basic AA supply; HM+AA = HM with extended AA supply, SM+AA = SM with extended AA supply; *added per kg of final diet: 2.1 g calcium, 0.8 g sodium, 5000 IU vitamin A, 1000 IU vitamin D3, 30 mg vitamin E, 2.6 mg vitamin B1, 4.8 mg vitamin B2, 3.2 mg vitamin B6, 20 µg vitamin B12, 3 mg vitamin K3, 50 mg nicotinic acid, 10 mg calcium pantothenate, 0.9 mg folic acid, 100 µg biotin, 1000 mg choline chloride, 50 mg Fe as iron-II-sulfate, monohydrate, 15 mg Cu as copper-II-sulfate, pentahydrate, 120 mg Mn as manganese-II-oxide, 70 mg Zn as zinc oxide, 1.4 mg I as calcium iodate, hexahydrate, 0.28 mg Se as sodium selenite, 0.55 mg Co as alkaline cobalt-II-carbonate, monohydrate and 100 mg butylhydroxytoluol; **N corrected apparent metabolizable energy, calculated according to WPSA [18]; ***derived from analyzed AA content of the ingredients.

and SM+AA) aimed to yield an improved dietary AA balance according to the currently assumed ideal AA ratio (IAAR) [16]; therefore, in addition to Lys and Met, further AAs (Thr, Arg, Val) were supplemented. In experiment 2, 75% (starter diet) and 50% (grower diet) replacement of SBM was investigated. Taking into account results from experiment 1, diets with either of the alternative proteins and the control diet were AA supplemented as summarized in **Table 3**. The control starter diet was completed with Lys, Met and Thr. The control grower diet also contained Val. The AA supplementation of HM and SM diets as well as the control diet (**Table 3**) aimed to achieve the IAAR [16]. In a second step, the calculated first limiting AA (LAA) was reduced to 80% of its recommended requirement to allow for further evaluations of the individual AA efficiency according to the “Goettingen approach” [17] and in order to verify its limiting position. In consequence, Met was limited for both the starter and grower HM diets. In SM diets, Lys was reduced as the calculated first LAA in the starter diet and Met was reduced in the grower diet. Experiment 3 investigated the effects of complete SBM substitution by SM or HM in starter and grower diets. Individual diet supplementation with AAs is summarized in **Table 4**. As compared with experiments 1 and 2, all diets were AA supplemented at the extended level to meet the IAAR [16]. According to the procedure in experiment 2, the concentration of the calculated first LAA of the experimental diets was reduced to 80% of its recommendation (HM: Met; SM: Lys) in order to verify the limiting position and to allow further evaluations of individual AA efficiency.

The analyzed nutrient compositions in **Table 2** demonstrate that in experiment 1 crude protein (CP) contents in dry matter (DM) tended to be lower in SM diets. Crude fiber contents ranged between 31.1 and 49.4 g/kg DM (starter diets) or 28.5 and 41.7 g/kg DM (grower diets). Crude ash (CA) contents were very similar in starter diets (58.1 to 65.6 g/kg DM) and grower diets (53.5 to 61.6 g/kg DM). Calculated AME_N data show that diets with alternative protein achieved a higher energy density, which is not related to the analyzed crude fat content. According to the elevated CP content in the alternative proteins, the larger amounts of wheat and corn in the diet composition increased the energy content of the final diets. This effect was not compensated by the reduction of soybean oil. At the basic level of AA supplementation, HM+ and SM+ diets contained lower levels of Lys, sulphur containing amino acid (SAA) and Arg as compared to the control diet. In addition, SM+ and SM+AA diets were lower in His content indicating that His supply could be a limiting factor for these diet compositions.

The analyzed nutrient compositions in **Table 3** demonstrate that in experiment 2 CP contents tended to be similar in the starter as well as in the grower diets. Crude fiber contents ranged between 31.4 g/kg DM to 49.6 g/kg DM (starter diets) or 38.1 g/kg and 57.7 g/kg DM (grower diets). CA contents were very similar in starter diets (55.1 g/kg DM to 63.0 g/kg DM) and in grower diets (54.1 g/kg DM to 61.1 g/kg DM). According to experiment 1, the calculated AME_N data demonstrates that diets with HM or SM have a higher energy density

Table 3. Ingredient composition and analyzed nutrient content of starter and grower diets in experiment 2.

Diets	Starter diets 75% SBM replacement					Grower diets 50% SBM replacement				
	C	HM+AA	SM+AA	HM-LAA	SM-LAA	C	HM+AA	SM+AA	HM-LAA	SM-LAA
<i>Ingredients (g/kg as-fed)</i>										
Wheat	326.7	390.3	392.5	391.6	394.8	360.2	396.5	398.8	397.7	399.9
Corn	163.4	195.1	196.2	195.8	197.4	180.1	198.3	199.4	198.9	200.0
Soybean meal	390	97.5	97.5	97.5	97.5	330.0	165.0	165.0	165.0	165.0
Hermetia meal	-	217.1	-	217.1	-	-	122.5	-	122.5	-
Spirulina meal	-	-	221.0	-	221.0	-	-	124.7	-	124.7
Soybean oil	78.5	58	52	58	52	91.0	80.0	76.0	80.0	76.0
Premix*	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
DCP 40	11.0	8.0	11.0	8.0	11.0	10.0	8.0	9.0	8.0	9.0
CaCO ₃	11.0	11.0	9.0	11.0	9.0	8.0	8.0	7.0	8.0	7.0
NaCl	3.0	1.0	0.8	1.0	0.8	2.5	1.5	1.0	1.5	1.0
Wheat starch	-	-	-	-	-	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
L-Lysine-HCl	2.5	4.2	5.8	4.2	2.3	1.8	2.8	3.6	2.8	3.6
DL-Methionine	3.6	4.2	3.5	2.1	3.5	2.6	2.9	2.5	1.2	0.8
L-Threonine	0.3	0.1	-	0.1	-	0.1	0.03	-	0.03	-
L-Arginine	-	3.5	0.2	3.5	0.2	-	1.5	-	1.5	-
L-Histidine	-	-	0.6	-	0.6	-	-	-	-	-
L-Valine	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-	-
<i>Analyzed crude nutrients (g/kgDM)</i>										
Crude protein	247.8	268.6	262.2	255.4	251.1	236.9	224.4	254.9	237.6	237.1
Ether extract	102.2	111.0	85.2	107.1	83.9	117.1	120.6	114.5	117.6	110.3
AME _N (MJ/kgDM)**	14.4	15.3	15.3	15.3	15.3	15.0	15.5	15.5	15.5	15.5
<i>Amino acids (g/kg as-fed)***</i>										
Lys	13.5	14.3	13.5	14.3	10.8	11.5	12.0	11.5	12.0	11.5
Met	6.5	7.1	7.1	5.1	7.1	5.3	5.6	5.6	3.9	3.9
Met+Cys	10.0	10.1	10.0	8.1	10.0	8.5	8.6	8.5	6.8	6.8
Thr	8.1	8.0	8.8	8.0	8.8	7.1	7.1	7.6	7.1	7.6
Arg	14.2	14.3	14.2	14.3	14.2	12.6	12.2	12.5	12.2	12.5
Val	9.3	11.0	11.4	11.0	11.5	9.1	9.4	9.6	9.4	9.6
Leu	16.1	15.6	17.5	15.6	17.6	14.6	14.3	15.4	14.3	15.4
Ile	8.8	8.6	9.9	8.6	9.9	7.9	7.7	8.5	7.7	8.5
His	5.4	5.9	4.6	5.9	4.6	4.9	5.2	4.1	5.2	4.1

C = control; HM+AA = HM with extended AA supply, SM+AA = SM with extended AA supply; HM-LAA = HM with 80% of limiting AA; SM-LAA = SM with 80% of limiting AA; *added per kg of final diet: 2.1 g calcium, 0.8 g sodium, 5000 IU vitamin A, 1000 IU vitamin D3, 30 mg vitamin E, 2.6 mg vitamin B1, 4.8 mg vitamin B2, 3.2 mg vitamin B6, 20 µg vitamin B12, 3 mg vitamin K3, 50 mg nicotinic acid, 10 mg calcium pantothenate, 0.9 mg folic acid, 100 µg biotin, 1000 mg choline chloride, 50 mg Fe as iron-II-sulfate, monohydrate, 15 mg Cu as copper-II-sulfate, pentahydrate, 120 mg Mn as manganese-II-oxide, 70 mg Zn as zinc oxide, 1.4 mg I as calcium iodate, hexahydrate, 0.28 mg Se as sodium selenite, 0.55 mg Co as alkaline cobalt-II-carbonate, monohydrate and 100 mg butylhydroxytoluol; **N corrected apparent metabolizable energy, calculated according to WPSA [18]; ***derived from analyzed AA content of the ingredients.

due to the increased wheat and corn contributions to the ingredient composition, which increased the energy content of the final diets.

In **Table 4** the analyzed nutrient compositions show that in experiment 3 CP contents tended to be very similar in the starter as well as in the grower diets. Crude fiber contents were between 18.2 g/kg DM to 52.3 g/kg DM (starter diets) and 15.4 g/kg DM to 39.1 g/kg DM (grower diets). The lowest crude fiber contents in starter and grower diets were found in the Spirulina diets. CA contents ranged between 53.6 g/kg to 63.4 g/kg DM (starter diets) and 50.9 to 61.9 g/kg DM (grower diets). Calculated AME_N data show that diets with HM or SM had a higher energy density because more wheat and corn contributed to the ingredient composition and therefore increased the energy content of the final diets. In the case of SM diets, the analyzed crude fat content was lowest when substituting out 100% of SBM; also the starch and carbohydrates in Spirulina lead to increased energy contents of the final diets.

2.4. Recorded Parameters

2.4.1. Feed Analysis

Analyses of feed ingredients and mixed diets were conducted according to the standards of VDLUFA [19]. Feed nitrogen analyses were carried out using the DUMAS-method (TruMac[®], Leco Instrument GmbH, Moenchengladbach) and CP was calculated using the factor 6.25 on nitrogen content. Amino acids were analyzed by ion-exchange chromatography (Biochrom[®] 30, Biochrom Ltd. Cambridge, England) using acid hydrolysis with and without an oxidation step for the quantification of sulphur containing amino acids. Crude fat was analyzed following HCl-hydrolysis.

2.4.2. Performance Parameters

Feed intake (FI), BW and mortality were measured during the growth trial. Individual BW and pen feed intake were recorded at weekly intervals and feed conversion ratio (FCR; g dry matter intake/g gain of BW) was calculated from these data. Mortality was routinely checked twice daily.

2.4.3. Whole Body Analysis and Nutrient Utilization Parameters

For individual body composition analysis, 4 birds per treatment with a representative average BW were selected at the end of the trial, killed by CO₂-inhalation after 24 h feed deprivation, packed in air-tight plastic bags and frozen at -20°C until further analysis. The carcasses were autoclaved (4 hours at 110°C, pressure about 1 bar) and homogenized. A sample of approximately 500 g/bird was utilized for body nutrient analyses (DM, CA, and CP) according to the standards of VDLUFA [19]. The difference between the nutrient content at the end of the trial and of analyzed birds at the start (data from Pastor [20]) was applied to quantify nutrient deposition data. Energy deposition was calculated based on 23.7 kJ/g body protein and 39.8 kJ/g body fat [21].

Table 4. Ingredient composition and analyzed nutrient content of starter and grower diets in experiment 3.

Diets	Starter diets 100% SBM replacement					Grower diets 100% SBM replacement				
	C	HM+AA	SM+AA	HM-LAA	SM-LAA	C	HM+AA	SM+AA	HM-LAA	SM-LAA
<i>Ingredients (g/kg as-fed)</i>										
Wheat	326.3	439.5	478.2	441.2	480.5	359.9	456.5	485.3	457.9	487.2
Corn	163.2	219.8	220.1	220.6	240.3	180.0	228.2	242.6	229.0	243.6
Soybean meal	390	-	-	-	-	330.0	-	-	-	-
Hermetia meal	-	250.0	-	250.0	-	-	210.0	-	210.0	-
Spirulina meal	-	-	230.0	-	230.0	-	-	200.0	-	200.0
Soybean oil	78.5	42.0	10.0	42.0	10.0	91.0	62.0	34.0	62.0	34.0
Premix*	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
DCP 40	11.0	8.0	12.0	8.0	12.0	10.0	7.0	11.0	7.0	11.0
CaCO ₃	11.0	11.0	9.0	11.0	9.0	8.0	8.0	6.0	8.0	6.0
NaCl	3.0	1.0	1.0	1.0	1.0	2.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Wheat starch	-	-	-	-	-	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
L-Lysine-HCl	2.5	6.1	6.2	6.0	2.7	1.8	4.8	4.7	4.8	1.8
DL-Methionine	2.2	2.3	1.0	1.2	1.0	1.7	1.8	0.6	0.8	0.6
L-Threonine	0.3	0.8	-	0.8	-	0.1	0.6	-	0.6	-
L-Arginine	-	5.5	-	5.4	-	-	4.2	-	4.2	-
L-Histidine	-	-	0.7	-	0.7	-	-	0.3	-	0.3
L-Leucine	-	0.8	-	0.7	-	-	-	-	-	-
L-Isoleucine	-	-	-	-	-	-	0.8	-	0.8	-
L-Valine	-	-	-	-	-	0.7	0.1	-	0.1	-
L-Cystein-HCl × H ₂ O	2.0	3.4	2.8	2.1	2.8	1.3	2.6	2.0	1.4	2.0
<i>Analyzed crude nutrients (g/kgDM)</i>										
Crude protein	246.4	259.9	240.3	253.8	261.2	218.6	230.8	222.8	218.9	229.3
Ether extract	104.2	103.0	46.8	105.8	47.5	116.9	104.3	66.3	114.0	65.1
AME _N (MJ/kgDM)**	14.4	15.4	14.9	15.4	14.9	15.0	15.9	15.4	15.9	15.4
<i>Amino acids (g/kg as-fed)***</i>										
Lys	13.5	14.4	13.5	14.4	10.8	11.5	12.3	11.5	12.3	9.2
Met	5.1	5.1	5.1	4.0	5.1	4.4	4.3	4.4	3.4	4.4
Met+Cys	10.0	10.1	10.0	8.1	10.0	8.5	8.6	8.5	6.9	8.5
Thr	8.1	8.0	8.7	8.0	8.8	7.1	7.1	7.9	7.1	7.9
Arg	14.2	14.3	14.2	14.3	14.2	12.6	12.2	12.8	12.2	12.9
Val	9.3	10.5	10.8	10.5	10.8	9.1	9.4	9.8	9.4	9.8
Leu	16.1	15.0	17.2	15.0	17.3	14.6	13.0	15.8	13.0	15.8
Ile	8.8	7.7	9.6	7.7	9.6	7.9	7.7	8.7	7.7	8.7
His	5.4	5.5	4.6	5.5	4.6	4.9	5.0	3.9	5.0	3.9

C = control; HM+AA = HM with extended AA supply, SM+AA = SM with extended AA supply; HM-LAA = HM with 80% of limiting AA; SM-LAA = SM with 80% of limiting AA; *added per kg of final diet: 2.1 g calcium, 0.8 g sodium, 5000 IU vitamin A, 1000 IU vitamin D3, 30 mg vitamin E, 2.6 mg vitamin B1, 4.8 mg vitamin B2, 3.2 mg vitamin B6, 20 µg vitamin B12, 3 mg vitamin K3, 50 mg nicotinic acid, 10 mg calcium pantothenate, 0.9 mg folic acid, 100 µg biotin, 1000 mg choline chloride, 50 mg Fe as iron-II-sulfate, monohydrate, 15 mg Cu as copper-II-sulfate, pentahydrate, 120 mg Mn as manganese-II-oxide, 70 mg Zn as zinc oxide, 1.4 mg I as calcium iodate, hexahydrate, 0.28 mg Se as sodium selenite, 0.55 mg Co as alkaline cobalt-II-carbonate, monohydrate and 100 mg butylhydroxytoluol; **N corrected apparent metabolizable energy, calculated according to WPSA [18]; ***derived from analyzed AA content of the ingredients.

2.4.4. Protein Evaluation Using the “Goettingen Approach”

Protein deposition data were utilized for the evaluation of dietary protein quality parameters based on an exponential N-utilization model [17] [22] [23] [24] [25] [26]. Equations ((1) and (2)) summarize the essential aspects of the procedure:

$$NR = NR_{\max} T (1 - e^{-b \cdot NI}) \quad (1)$$

$$ND = NR_{\max} T (1 - e^{-b \cdot NI}) - NMR \quad (2)$$

whereby

NR = daily N retention (ND + NMR) [mg/BW_{kg}^{0.67}]

ND = daily N deposition or N balance [mg/BW_{kg}^{0.67}]

NMR = daily N maintenance requirement [mg/BW_{kg}^{0.67}]

NR_{max}T = theoretical maximum for daily N retention [mg/BW_{kg}^{0.67}]

b = model parameter for the slope of the function between NI and NR, depending on the dietary protein quality

NI = daily N intake [mg/BW_{kg}^{0.67}]

e = basic number of natural logarithm [ln]

Both the model parameter NMR (240 mg/BW_{kg}^{0.67}) and NR_{max}T (3840 mg/BW_{kg}^{0.67}) are derived from experiments with fast growing chickens of equal genotype [27]. For evaluation of the whole growth period, an averaged NR_{max}T (3840 mg/BW_{kg}^{0.67}) was applied. Following the logarithmic transformation of Equation (1), model parameter “b” provides a NI independent measure of dietary protein quality according to Equation (3):

$$b = \frac{[\ln NR_{\max} T - \ln(NR_{\max} T - NR)]}{NI} \quad (3)$$

Additionally, the net protein utilization (NPU) was calculated, for a complex dietary protein quality evaluation, by taking into account both digestion and post-absorptive utilization:

$$NPU (\%) = \frac{NR}{NI} * 100 \quad (4)$$

However, traditional protein quality measures are not independent of the level of realized protein intake [28] [29] [30]. Consequently, a standardization of protein intake was conducted by the “Goettingen approach”, as according to earlier studies [17] [29] [30] [31] [32], providing NPU data which are independent of NI. According to Equation (5), standardized net protein utilization data (NPU_{std}) were calculated from equal daily nitrogen intake NI_{std} (3000 mg/BW_{kg}^{0.67}):

$$NPU_{std} (\%) = NR_{\max} T \frac{(1 - e^{-b \cdot 3000})}{3000} * 100 \quad (5)$$

The parameter “b” as derived from the exponential model (Equation (3)) is a prerequisite for this standardization procedure.

2.5. Statistical Analysis

Statistical analyses were conducted with SPSS software package (IBM SPSS Sta-

tistics, Version 24.0) and results are presented as means \pm standard deviation. One-way analysis of variance (ANOVA) tests were performed to compare means of the primary N balance data. To verify the variance homogeneity and identification of significant differences ($p < 0.05$) the Games-Howell and Tuckey tests were applied.

3. Results

According to the main components of the investigations, the results are summarized in three sections.

3.1. Body Nutrient Composition

Body nutrient compositions of birds at the end of the growth trial are shown for each experiment in **Table 5**.

In experiment 1, a significant effect on CP content in DM was only observed between the control and SM+AA diet. Birds fed with the control diet yielded the highest CP content, but not significantly different to the SM+, HM+ and HM+AA diets. The lowest CP content was observed with SM+AA diet. The same ranking was found in reverse order for the ether extract (EE) contents in DM, indicating the highest EE content in birds from the SM+AA diet group significantly differing from control diet birds. CA content in DM was lowest for the SM+AA diet birds, but only significantly different from the HM+ and SM+ diets birds.

In experiment 2, the highest CP content and the corresponding lowest EE content in body DM was also found in control diet birds, but the values did not significantly differ from birds fed the SM+AA diet. HM-LAA diet yielded the lowest CP content in the whole body analysis, but did not differ significantly in body CP contents of birds fed SM-LAA and HM+AA diets. Numerical differences were found between the SM+AA, HM+AA and SM-LAA diets, respectively. Both of the HM diets and the SM-LAA diet achieved superior EE contents in body DM. The CA body content was not significantly different between diets.

In experiment 3, corresponding with observations in experiment 1 and 2, the highest CP content in body DM was found for control diet birds, differs significantly from all birds except those fed the SM+AA diet. Generally, the CP content of body DM did not significantly differ between the HM and SM diets. The body EE content was lowest in birds fed the control diet, as was also observed in experiments 1 and 2. Birds fed the HM and SM diets did not differ significantly in body EE contents of DM. The SM-LAA diet birds yielded the highest CA content and only differed significantly from HM+AA birds; while all the other groups did not differ significantly from one another nor from SM-LAA and HM+AA fed birds.

3.2. Zoo-Technical Data and Nutrient Deposition

Results of the growth study are summarized in **Table 6**. Within each of the ex-

periments, the initial BW was very similar between diets. Enabling the conclusion to be drawn that the diets had an effect on the final BW as these data significantly differed.

In [experiment 1](#), the AA balanced diet HM+AA yielded a superior final BW that was significantly higher than birds fed the control diet; however SM+AA birds were similar to that of the control group. The basic level of AA supplementation (SM+ and HM+ diets) depressed growth significantly. The SM diet

Table 5. Average body nutrition composition of birds at the end of the 5 weeks growth trials dependent on the diet under study.

		Nutrient content			
		(%)	(g/kgDM)		
		DM	CP	EE	CA
Day old chicken		22.54 ± 0.18	687.9 ± 12.1	226.9 ± 11.3	85.2 ± 1.1
Experiment	Diets	n = 4	n = 4	n = 4	n = 4
1	Control	29.91 ^a ± 1.71	570.2 ^b ± 21.0	354.0 ^a ± 24.2	75.8 ^{ab} ± 4.4
1	HM+	31.14 ^{ab} ± 0.76	522.1 ^{ab} ± 24.1	395.1 ^{ab} ± 26.3	82.8 ^b ± 2.7
1	SM+	29.90 ^a ± 0.73	536.3 ^{ab} ± 20.2	379.1 ^{ab} ± 22.2	84.5 ^b ± 2.4
1	HM+AA	31.69 ^{ab} ± 1.36	531.4 ^{ab} ± 27.7	394.8 ^{ab} ± 34.8	73.8 ^{ab} ± 7.4
1	SM+AA	32.92 ^b ± 1.13	493.7 ^a ± 19.5	433.1 ^b ± 20.9	73.2 ^a ± 2.8
SEM		0.354	7.229	7.866	1.386
p		0.013	0.005	0.010	0.005
2	Control	29.66 ^a ± 0.55	592.3 ^c ± 26.9	329.6 ^a ± 29.8	78.1 ± 3.0
2	HM+AA	31.99 ^{ab} ± 0.69	535.0 ^{ab} ± 20.4	392.7 ^{bc} ± 19.9	72.4 ± 3.3
2	SM+AA	30.54 ^{ab} ± 1.53	557.5 ^{bc} ± 14.6	365.3 ^{ab} ± 17.8	77.2 ± 6.4
2	HM-LAA	32.99 ^b ± 0.70	511.1 ^a ± 16.7	417.1 ^c ± 21.1	71.8 ± 4.9
2	SM-LAA	31.48 ^{ab} ± 1.69	532.7 ^{ab} ± 18.0	398.2 ^b ± 20.4	69.1 ± 3.1
SEM		0.348	7.438	8.251	1.166
p		0.008	<0.001	0.001	0.050
3	Control	30.47 ^a ± 0.28	603.6 ^b ± 19.1	321.0 ^a ± 22.5	75.5 ^{ab} ± 4.6
3	HM+AA	33.01 ^{ab} ± 1.07	535.2 ^a ± 13.4	396.7 ^b ± 16.7	68.2 ^a ± 3.3
3	SM+AA	31.54 ^{ab} ± 1.91	563.3 ^{ab} ± 48.7	365.8 ^{ab} ± 53.7	70.9 ^{ab} ± 6.1
3	HM-LAA	33.33 ^b ± 0.61	507.8 ^a ± 9.8	423.0 ^b ± 11.7	69.2 ^{ab} ± 2.2
3	SM-LAA	31.45 ^{ab} ± 1.54	543.4 ^a ± 22.7	378.8 ^{ab} ± 26.2	77.8 ^b ± 3.6
SEM		0.345	9.020	9.805	1.189
p		0.028	0.002	0.003	0.022

DM = dry matter; CP = crude protein, EE = ether extract; CA = crude ash; C = control; HM+ = HM with basic AA supply; SM+ = SM with basic AA supply; HM+AA = HM with extended AA supply, SM+AA = SM with extended AA supply; HM-LAA = HM with 80% of limiting AA; SM-LAA = SM with 80% of limiting AA; SEM = standard error of the mean; p = p-value; ^{a-c} means with different superscript letters within columns of individual experiments are significantly different ($p < 0.05$).

Table 6. Zoo-technical and corresponding nutrient deposition data dependent on the diet under study.

Diets	Experiment 1: (1 - 34 d) 50% SBM replacement						Experiment 2: (1 - 35 d) 75%/50% SBM replacement					Experiment 3: (1 - 34 d) 100% SBM replacement						
	C	HM+	SM+	HM +AA	SM +AA	SEM <i>P</i>	C	HM +AA	SM +AA	HM -LAA	SM -LAA	SEM <i>P</i>	C	HM +AA	SM +AA	HM -LAA	SM -LAA	SEM <i>P</i>
n	12	9	8*	9	9		12	9	9	9	9		12	9	9	9	9	
<i>Growth performance data</i>																		
BW _{Initial} (g)	47.5 ± 0.1	47.4 ± 0.1	47.3 ± 0.1	47.3 ± 0.2	47.3 ± 0.2	0.025 0.304	51.6 ± 0.3	51.9 ± 0.2	51.7 ± 0.4	51.7 ± 0.1	51.8 ± 0.1	0.035 0.171	45.5 ± 0.1	45.5 ± 0.1	45.5 ± 0.1	45.5 ± 0.1	45.5 ± 0.1	0.015 0.745
BW _{Final} (g)	2174 ^c ± 112	1494 ^b ± 89	1063 ^a ± 65	2320 ^d ± 114	2122 ^c ± 122	69.568 <0.001	2368 ^{bc} ± 153	2530 ^c ± 100	2327 ^b ± 75	2317 ^b ± 93	1780 ^a ± 165	39.975 <0.001	2177 ^b ± 104	2397 ^c ± 103	2053 ^b ± 102	2320 ^c ± 72	1548 ^a ± 128	44.785 <0.001
DM intake (g/d)	87.3 ^c ± 4.7	75.4 ^b ± 6.2	57.8 ^a ± 1.9	87.1 ^c ± 5.6	86.0 ^c ± 5.8	1.750 <0.001	93.1 ^b ± 5.9	93.7 ^b ± 3.4	87.3 ^b ± 3.9	89.0 ^b ± 4.9	75.6 ^a ± 6.3	1.174 <0.001	93.8 ^c ± 3.7	88.7 ^b ± 3.6	86.2 ^b ± 4.0	86.8 ^b ± 2.3	69.9 ^a ± 6.3	1.308 <0.001
FCR (g/g)	1.35 ^b ± 0.04	1.72 ^c ± 0.17	1.89 ^c ± 0.11	1.26 ^a ± 0.04	1.37 ^b ± 0.03	0.037 <0.001	1.37 ^b ± 0.06	1.29 ^a ± 0.03	1.30 ^{ab} ± 0.05	1.33 ^b ± 0.02	1.49 ^c ± 0.05	0.013 <0.001	1.45 ^b ± 0.06	1.25 ^a ± 0.03	1.42 ^b ± 0.03	1.26 ^a ± 0.02	1.54 ^c ± 0.05	0.017 <0.001
<i>Nutrient deposition</i>																		
CP deposition (g/d)	11.05 ^d ± 0.58	7.16 ^b ± 0.44	4.95 ^a ± 0.31	11.64 ^d ± 0.58	10.23 ^c ± 0.60	0.371 <0.001	12.02 ^{bc} ± 0.79	12.52 ^c ± 0.50	11.44 ^b ± 0.38	11.28 ^b ± 0.46	8.56 ^a ± 0.81	0.215 <0.001	11.94 ^{cd} ± 0.58	12.64 ^d ± 0.55	10.86 ^b ± 0.55	11.70 ^c ± 0.37	7.82 ^a ± 0.66	0.252 <0.001
EE deposition (g/d)	6.92 ^c ± 0.36	5.51 ^b ± 0.33	3.58 ^a ± 0.22	8.73 ^d ± 0.43	9.08 ^d ± 0.53	0.293 <0.001	6.74 ^a ± 0.44	9.28 ^c ± 0.37	7.57 ^b ± 0.25	9.31 ^c ± 0.38	6.49 ^a ± 0.61	0.185 <0.001	6.39 ^b ± 0.31	9.45 ^d ± 0.41	7.11 ^c ± 0.36	9.85 ^d ± 0.31	5.52 ^a ± 0.46	0.249 <0.001

C = control; HM+ = HM with basic AA supply; SM+ = SM with basic AA supply; HM+AA = HM with extended AA supply, SM+AA = SM with extended AA supply; HM-LAA = HM with 80% of limiting AA; SM-LAA = SM with 80% of limiting AA; BW = body weight; DM = dry matter; FCR = feed conversion ratio; CP = crude protein; EE = ether extract; *one box excluded, outlier in feed conversion ratio, detected with SPSS boxplot-test ($p \leq 0.05$); SEM = standard error of the mean; p = p-value; ^{a-d} means with different superscript letters within the same row for each experiment separately are significantly different ($p < 0.05$).

supported the lowest growth rate, corresponding with a low DM intake (DMI) and an impaired FCR. The extended AA supplementation in the HM+AA and SM+AA diets appeared to compensate for AA imbalances and supporting FCR data are similar or superior (HM+AA) to the control. Accordingly, the observed crude protein deposition (CPD) was highest with the HM+AA diet, but not significantly different from the control. However, fat deposition (EED) was significantly elevated in birds fed the AA fortified diets.

In experiment 2, the diets with extended AA supplementation (HM+AA and SM+AA) led to final BW of birds that were not significantly different from the control group, but did differ from each other, with the insect meal diet showing superior results. DMI and FCR were not significantly different between the alternative protein source groups when supplemented at an extended level. The most efficient FCR was observed with the HM+AA diet and was significantly improved to that of the control. When the expected LAA was reduced, the SM-LAA diet resulted in the highest FCR and was significantly different from all other diets; whereas the HM-LAA diet resulted in a significant difference from the HM+AA diet, in addition to differing from the SM-LAA, but did not differ from the control. The reaction of CPD data and final BW was very similar across diets. HM diets produced the highest EED, which was significantly higher than

the control and SM diets.

In experiment 3, zoo-technical data responded very similarly to experiment 2. However, DMI of birds with a 100% substitution rate of SBM were significantly lower, even when the extended AA supplementation was applied. FCR data between +AA diets with either of the protein sources were significantly different, where the 100% substitution of SBM by SM yielded lower feed efficiency compared to the substitution by HM. Nonetheless, FCR for the SM+AA diet was similar to that of the control group. Compared to the HM+AA diet, the HM-LAA diet yielded no significant response for zoo-technical data, but CPD significantly declined ($p < 0.001$) while EED remained unaffected at the highest observed level. Fat deposition was significantly enhanced with the utilization of HM in the diets, compared to the other diets. However, reducing the supply of LAA in the SM-LAA diet impaired zoo-technical data significantly compared to all other diets. Accordingly, CPD and EED were also significantly lowest across the treatments.

3.3. Protein Quality Parameter (NPU_{std})

Assessment of dietary protein quality results in **Table 7** are focused on the model parameter “b” and the derived NPU_{std} , yielding the most complex measure of the achieved effect on feed protein quality

Throughout all three experiments, the protein quality of the control diets remained very similar and no significant effect between experiments 1 - 3 was observed.

In experiment 1, the basic level of AA supplementation, which was equal to the control diet, significantly declined the feed protein quality with either of the alternative protein sources. In contrast, the extended level of AA supplementation in diet HM+AA yielded superior NPU_{std} ; it was not significantly higher than the control diet results. However, with the SM+AA diet protein quality was significantly lowered.

In experiment 2, no significant difference was found amongst the control diet, HM+AA diet and SM+AA diet. However, diets with a lower supply of the expected LAA yielded significantly lower protein quality, confirming that the expected LAA was indeed the actual LAA. This information is of special importance for further calculations with the “Goettingen approach”.

In experiment 3, the superior protein quality ($p < 0.001$) was found with the HM+AA diet and the SM+AA diet yielded lower protein quality ($p < 0.001$), even compared to the control group, despite the extended AA supplementation. Both diets with a reduced supply of the expected LAA resulted in lower protein quality ($p < 0.001$), indicating the limiting position as expected.

4. Discussion

Based on zoo-technical data collected in these experiments, we could demonstrate that an extended AA supplementation according to the IAAR [16], both

Table 7. Protein quality parameter.

Experiment	Diets	n	Protein quality parameter	
			Model parameter b ($\times 10^6$)**	NPU _{std} (%)***
Exp. 1 50% SBM replacement	C	12	225 ^c ± 7	62.9 ^c ± 1.3
	HM+	9	162 ^a ± 15	49.1 ^a ± 3.7
	SM+	8*	151 ^a ± 9	46.7 ^a ± 2.1
	HM+AA	9	228 ^c ± 7	63.4 ^c ± 1.4
	SM+AA	9	215 ^b ± 5	60.9 ^b ± 0.9
	SEM			4.930
	p		<0.001	<0.001
Exp. 2 75% / 50% SBM replacement	C	12	230 ^c ± 11	63.7 ^c ± 2.0
	HM+AA	9	225 ^c ± 5	62.9 ^c ± 1.0
	SM+AA	9	223 ^c ± 8	62.3 ^c ± 1.6
	HM-LAA	9	213 ^b ± 3	60.4 ^b ± 0.7
	SM-LAA	9	191 ^a ± 14	55.7 ^a ± 3.0
	SEM			2.374
	p		<0.001	<0.001
Exp. 3 100% SBM replacement	C	12	230 ^c ± 10	63.7 ^c ± 1.9
	HM+AA	9	249 ^d ± 8	67.3 ^d ± 1.4
	SM+AA	9	215 ^b ± 5	60.9 ^b ± 1.0
	HM-LAA	9	233 ^c ± 4	64.3 ^c ± 0.8
	SM-LAA	9	189 ^a ± 7	55.3 ^a ± 1.4
	SEM			3.023
	p		<0.001	<0.001

C = control; HM+ = HM with basic AA supply; SM+ = SM with basic AA supply; HM+AA = HM with extended AA supply; SM+AA = SM with extended AA supply; HM-LAA = HM with 80% of limiting AA; SM-LAA = SM with 80% of limiting AA; *one box excluded, outlier in feed conversion ratio, detected with SPSS boxplot-test ($p \leq 0.05$); **applied for NPU standardization based on: $\text{NMR} = 240 \text{ mg/BW}_{\text{kg}}^{0.67}/\text{d}$ and $\text{NR}_{\text{max}}\text{T} = 3840 \text{ mg/BW}_{\text{kg}}^{0.67}/\text{d}$; ***standardized N intake = $3000 \text{ mg/BW}_{\text{kg}}^{0.67}/\text{d}$; SEM = standard error of the mean; p = p-value; ^{a-d} means with different superscript letters within columns of individual experiments are significantly different ($p < 0.05$).

for the HM and SM diets, led to superior growth responses and feed conversion. In the case of HM based diets, the response also exceeded the control level ($p < 0.001$ in [experiment 1 and 3](#)). Accordingly, Oluokun [11] examined diets with HM as related to full-fat soybean meal diets and observed higher growth rates for HM meal diets. Although the diets were not exact to the diets used in this study, Elwert *et al.* [33] also reported similar growth responses in chickens (1 - 10 d) for their SBM control group and their experimental diet, which included a lower inclusion of HM (4.7%) and only the supplementation of Lys and Met. Although these superior responses were monitored at the extended AA supplementation level, the basic level of AA supplementation in [experiment 1](#), which

was equal to the control diet, proved insufficient to produce acceptable growth performance and feed efficiency responses in meat-type growing chicken. This effect was obvious with either of the alternative proteins, but was much more pronounced in diets with SM, generally indicating that a higher level of AA supplementation is required. Nevertheless, Spirulina diets with extended AA supplementation yielded growth data similar to that of the control diet. Evans *et al.* [8] also observed no significant effects on BW (21 d) with microalgae meal integrated at a rate between 6% and 16% in chicken diets. Venkataraman *et al.* [34] yielded similar conclusions with a 14% and 17% *Spirulina platensis* inclusion rate in their diets, but they found that BW was significantly depressed with 21% Spirulina in the diet. We did not observe such a dose-effect with higher inclusion rates. In experiment 3, 23.0% (starter) and 20.0% (grower) Spirulina powder in the diets yielded no depression of final BW when AA supplementation balanced the AA supply. In direct correspondence to growth response the feed acceptance could be a factor of importance [8], but only in experiment 3 with 23.0% (starter) and 20.0% (grower) Spirulina powder in the diets did feed intake decline ($p < 0.001$) as compared to the control diet. This effect was very weak and only numerical in experiments 1 and 2. Regarding the feed conversion ratio no significant effect between the control and SM+AA diets was found in experiments 1-3. Accordingly, Venkataraman *et al.* [34] observed no decline of feed efficiency with SM at 14% and 17% inclusion rates. The application of HM in diets with an extended AA supplementation improved ($p < 0.001$) FCR in each of the experiments reported. However, it should be noted that an extended AA supplementation to balance the observed AA deficiencies according to the current IAAR [16] is a significant precondition. Feeding alternative protein sources without an adequate AA supplementation is also the main premise found in the N balance studies conducted by Neumann *et al.* [32] with broiler chickens and complete substitution of SBM by HM or SM as well as the study by Austic *et al.* [10].

Regarding the final body composition, in each of the experiments the highest CP content (57 to 60 percent of DM) was observed in birds fed the control diet. Accordingly, the body fat content was lowest in control birds and ranged between 32 and 35 percent of DM. This is likely because the control diets in both of the age periods (starter and grower) were lowest in AME_N content. Experimental diets with either of the alternative protein sources yielded a shift in dietary crude fat content. This effect was most pronounced in diets with HM due to the high fat content of the partly defatted insect meal. However, it was not the aim of the experimental design to compensate for this obvious effect on energy concentration in the diets by adapting plant oil content in the final mixtures. Consequently, the observed significant responses on body composition data were not surprising. Therefore it is more interesting to focus further discussion on the nutrient deposition data, which take into account that varying body composition is an important factor influencing zoo-technical data. From this point of view, the superior CPD in birds fed HM+AA diets needs to be highlighted. This effect was

demonstrated in each of the experiments, but as compared to the control diet the observed advantage was only numerical. Except in experiment 2, birds fed the SM+AA diets produced lower CPD ($p < 0.001$) than birds of the control group. Diets with HM and SM with a basic level of AA supplementation in experiment 1 achieved only very low daily CPD, more than 50 percent below the control, indicating that the basic supply of feed AAs was insufficient as already demonstrated by the zoo-technical results. In addition, as expected according to the final feed mixtures, fat deposition was highest in birds with HM+AA diets according to the increased energy content in these diets. However, the diet construction cannot be identified as an influencing factor for the level of daily CPD. In consequence, the slight energetic oversupply in HM and SM diets ensured that no energetic limitation occurred for dietary protein utilization.

Looking more closely at the observed dietary protein quality, the standardized net protein utilization (NPU_{std}) indicates that the control diet yielded very similar results ($p > 0.05$) between the three experiments and in consequence the control diet is a reference diet across experiments. As reported earlier, the protein quality parameter NPU_{std} is a measure of protein quality independent of individual variation of N intake. It is clearly demonstrated in our study that diets with an alternative protein and extended AA supplementation level yield superior protein quality. This observation is also supported by a current report by Neumann *et al.* [32], who assessed the dietary protein quality based on N balance studies in growing chickens. Generally, an extended AA supplementation is required in chicken diets containing either of the alternative protein sources under study at a high level of SBM substitution. It is also obvious from the NPU_{std} data that improvements in balancing of the AA supply in SM diets needs further attention, given that the observed protein quality was generally below that with the HM diets. This observation could also be attributed to a lower protein digestibility of algae meal. However, microalgae do not contain cellulose in the cell wall, but a thin, unstable shell of murein (peptidoglycans) which does not act as a barrier for proteolytic enzymes during digestion [35]. The observed *in vitro* protein digestibility ranged between 70% and 85% [36] when pepsin and subsequently pancreatin incubation was applied. However, fresh Spirulina has been shown to be more digestible as compared to sun-dried or freeze-dried meal [36]. To date there is no relevant study currently available dealing with the digestibility parameters of algal biomass in chicken diets. Carbohydrates and fibers in the Spirulina biomass could affect the digestibility and also create gastro-intestinal disturbances, flatulence or fluid retention [37]. It would be important to know whether the cell walls are digestible themselves or only fragile enough to make the cell content readily accessible to digestive enzymes. Schiavone *et al.* [38] measured the apparent total tract digestibility both of partly defatted HM and highly defatted HM. The later achieved significantly lower digestibility coefficients of ether extract (0.98 vs. 0.93); however no significant effect was observed for the digestibility coefficient of crude protein (0.62 vs. 0.62) and

organic matter (0.69 vs. 0.64) of partly defatted and highly defatted HM, respectively. These reported low protein digestibility values suggest conflicting evidence of the actual protein digestibility of HM when taking into account our observations of complex protein quality with a high inclusion rate of insect meal and extended AA supplementation. We conclude that digestibility parameters as derived by differences in technique and chemical separation of fecal N should not be over-interpreted. In consequence, more research is needed to overcome the inconsistencies in observations.

Experiments 2 and 3 were also designed, to provide preliminary information about individual AA efficiency in diets with a high substitution rate of SBM by either of the alternative proteins under study. Therefore, the supply of the potential LAA was reduced to measure protein deposition under circumstances of its validated limiting position. Following reduced LAA supply, zoo-technical parameters responded significantly (**Table 6**) and dietary protein quality (**Table 7**) as well. Reducing Lys supply in Spirulina diets to 80% of its recommendation yielded clear responses, also indicating the importance of balancing this AA in Spirulina based diets. Effects were less pronounced following the reduction of Met supply in *Hermetia* diets, but were still significant as compared to the +AA diet. In consequence, the dietary AA efficiency of the individual LAA can be directly derived and utilized for further applications of the “Goettingen approach” as discussed elsewhere [17] [22] [23] [24] [25] [26]. Further investigations are needed to exploit the complete potential of AA supplementations in order to achieve an optimal AA balance in diets with a high substitution level of SBM by either of the protein sources under study. In addition, based on observed AA efficiency data more focus should be on improving the AA efficiency in such alternative diets. In this context we also have to point out, that the influence of different batches of the alternative proteins under study is an important additional factor which needs to be investigated in more detail before final conclusions about optimal AA supplementation in chicken diets with high inclusion rate of these proteins are validated.

5. Conclusion

At only a basic level of AA supplementation, graded substitution (50%, 75% or 100%) of SBM by partly defatted larvae meal of *Hermetia illucens* or algae meal of *Spirulina platensis* depressed the protein quality of diets for growing chickens and zoo-technical parameters as well. This effect was much more pronounced in diets with algae meal. However, an extended level of AA supplementation according to the IAAR yielded significantly improved growth responses, protein deposition and dietary protein quality, but still generally not on par with the control diet. Comparing the two alternative protein sources, diets with the insect meal provided superior results. Insect meal based diets with an advanced level of AA supplementation yielded superior responses on growth, feed conversion ratio, protein deposition and protein quality, even significantly at a 100% substitu-

tion level of SBM. The quality of the achieved dietary AA balance was a more important factor for the observed protein quality than the substitution level. In consequence, both partly defatted larvae meal of *Hermetia illucens* and algae meal of *Spirulina platensis* are promising alternative protein sources in chicken diets when the dietary AA balance is well adapted to the IAAR recommendations through an enlarged range of supplemented feed AAs.

References

- [1] Finke, M.D. (2002) Complete Nutrient Composition of Commercially Raised Invertebrates Used as Food for Insectivores. *Zoo Biology*, **21**, 269-285. <https://doi.org/10.1002/zoo.10031>
- [2] Finke, M.D. (2004) Nutrient Content of Insects-Organic Value Recovery Solution Studies. Encyclopedia of Entomology No. 10.1007/0-306-48380-7_2920, Springer Verlag, Berlin. https://doi.org/10.1007/0-306-48380-7_2920
- [3] Finke, M.D. (2013) Complete Nutrient Content of Four Species of Feeder Insects. *Zoo Biology*, **32**, 27-36. <https://doi.org/10.1002/zoo.21012>
- [4] Van Huis, A. (2013) Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annual Review of Entomology*, **58**, 563-583. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>
- [5] Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V. and Ankers, P. (2014) State-of-the-Art on Use of Insects as Animal Feed. *Animal Feed Science and Technology*, **197**, 1-33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>
- [6] Bellof, G. and Carrasco Alarcon, L.S. (2013) Effect of *Spirulina platensis* in Organic Broiler Production. Einsatz der Mikroalge *Spirulina platensis* in der ökologischen Broilermast. *Archiv für Geflügelkunde*, **77**, 73-80.
- [7] Gongnet, G.P., Niess, E., Rodehutschord, M. and Pfeffer, E. (2001) Algae-Meal (*Spirulina platensis*) from Lake Chad Replacing Soybean-Meal in Broiler Diets. *Archiv für Geflügelkunde*, **65**, 265-268.
- [8] Evans, A.M., Smith, D.L. and Moritz, J.S. (2015) Effects of Algae Incorporation into Broiler Starter Diet Formulations on Nutrient Digestibility and 3 to 21 d Bird Performance. *Journal of Applied Poultry Research*, **24**, 206-214. <https://doi.org/10.3382/japr/pfv027>
- [9] Ross, E. and Dominy, W. (1990) The Nutritional Value of Dehydrated, Blue-Green Algae (*Spirulina platensis*) for Poultry. *Poultry Science*, **69**, 794-800. <https://doi.org/10.3382/ps.0690794>
- [10] Austic, R.E., Mustafa, A., Jung, B., Gatrell, S. and Lei, X.G. (2013) Potential and Limitation of a New Defatted Diatom Microalgal Biomass in Replacing Soybean Meal and Corn in Diets for Broiler Chickens. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **61**, 7341-7348. <https://doi.org/10.1021/jf401957z>
- [11] Oluokun, J.A. (2000) Upgrading the Nutritive Value of Full-Fat Soybeans Meal for Broiler Production with Either Fishmeal or Black Soldier Fly Larvae Meal (*Hermetia illucens*). *Nigerian Journal of Animal Science*, **3**. <https://doi.org/10.4314/tjas.v3i2.49768>
- [12] Bovera, F., Loponte, R., Marono, S., Piccolo, G., Parisi, G., Iaconisi, V., Gasco, L. and Nizza, A. (2016) Use of *Tenebrio molitor* Larvae Meal as a Protein Source in Broiler Diet: Effect on Growth Performance, Nutrient Digestibility, and Carcass and Meat Traits. *Journal of Animal Science*, **94**, 639-647.

- <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9201>
- [13] Hwangbo, J., Hong, E.C., Jang, A., Kang, H.K., Oh, J.S., Kim, B.W. and Park, B.S. (2009) Utilization of House Fly-Maggots, a Feed Supplement in the Production of Broiler Chickens. *Journal of Environmental Biology*, **30**, 609-614.
- [14] Vantomme, P. (2015) Way Forward to Bring Insects in the Human Food Chain. *Journal of Insects as Food and Feed*, **1**, 121-129.
<https://doi.org/10.3920/JIFF2014.0014>
- [15] Commission Regulation (EU) 2017/893 (2017) Official Journal of the European Union of 24 May 2017 Amending Annex I and IV to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council and Annexes X, XIV and XV to Commission Regulation (EU) No 142/2011 as Regards the Provisions on Processed Animal Protein. L 138/92-L 138/116.
- [16] Wecke, C. and Liebert, F. (2013) Improving the Reliability of Optimal In-Feed Amino Acid Ratios Based on Individual Amino Acid Efficiency Data from N Balance Studies in Growing Chicken. *Animals*, **3**, 558-573.
<https://doi.org/10.3390/ani3030558>
- [17] Liebert, F. (2017) Invited Review: Further Progress Is Needed in Procedures for the Biological Evaluation of Dietary Protein Quality in Pig and Poultry Feeds. *Archives Animal Breeding*, **60**, 259-270. <https://doi.org/10.5194/aab-60-259-2017>
- [18] WPSA (1984) The Prediction of Apparent Metabolizable Energy Values for Poultry in Compound Feeds. *World's Poultry Science Journal*, **40**, 181-182.
- [19] Naumann, C. and Bassler, R. (1976-2004) Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch, Volume III, VDLUFA-Verlag, Darmstadt.
- [20] Pastor, A. (2014) Studien zur Aminosäurenwirksamkeit beim Mastgeflügel unter spezifischer Betrachtung der verzweigt-kettigen Aminosäuren. PhD Dissertation, Tierernährungsphysiologie, Georg-August-Universität, Göttingen.
- [21] Fuller, M.F. (2004) The Encyclopedia of Farm Animal Nutrition. CABI Publishing, Wallingford. <https://doi.org/10.1079/9780851993690.0000>
- [22] Samadi and Liebert, F. (2007) Lysine Requirement of Fast Growing Chickens—Effects of Age, Sex, Level of Protein Deposition and Dietary Lysine Efficiency. *The Journal of Poultry Science*, **44**, 63-72. <https://doi.org/10.2141/jpsa.44.63>
- [23] Samadi and Liebert, F. (2007) Threonine Requirement of Slow-Growing Male Chickens Depends on Age and Dietary Efficiency of Threonine Utilization. *Poultry Science*, **86**, 1140-1148. <https://doi.org/10.1093/ps/86.6.1140>
- [24] Liebert, F. (2008) Modelling of Protein Metabolism Yields Amino Acid Requirements Dependent on Dietary Amino Acid Efficiency, Growth Response, Genotype and Age of Growing Chicken. *Avian Biology Research*, **1**, 101-110.
<https://doi.org/10.3184/175815508X388074>
- [25] Liebert, F. (2015) Basics and Applications of an Exponential Nitrogen Utilization Model (“Goettingen Approach”) for Assessing Amino Acid Requirements in Growing Pigs and Meat Type Chickens Based on Dietary Amino Acid Efficiency. In: Sakomura, N.K., Gous, R., Kyriazakis, I. and Hauschild, L., Eds., *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry*, CABI Publishing, Wallingford, 73-87.
<https://doi.org/10.1079/9781780644110.0073>
- [26] Samadi, W.C., Pastor, A. and Liebert, F. (2017) Assessing Lysine Requirement of Growing Chicken by Direct Comparison between Supplementation Technique and “Goettingen Approach”. *Open Journal of Animal Science*, **7**, 56-69.
<https://doi.org/10.4236/ojas.2017.71006>

- [27] Wecke, C., Pastor, A. and Liebert, F. (2016) Validation of the Lysine Requirement as Reference Amino Acid for Ideal In-Feed Amino Acid Ratios in Modern Fast Growing Meat-Type Chickens. *Open Journal of Animal Science*, **6**, 185-194. <https://doi.org/10.4236/ojas.2016.63024>
- [28] Block, R.J. and Mitchell, H.H. (1946) The Correlation of Amino Acid Composition of Proteins with Their Nutritive Value. *Nutrition Abstracts & Reviews*, **16**, 249-278.
- [29] Thong, H.T. and Liebert, F. (2004) Potential for Protein Deposition and Threonine Requirement of Modern Genotype Barrows Fed Graded Levels of Protein with Threonine as Limiting Amino Acid. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **88**, 196-203. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2004.00457.x>
- [30] Wecke, C. and Liebert, F. (2009) Lysine Requirement Studies in Modern Genotype Barrows Dependent on Age, Protein Deposition and Dietary Lysine Efficiency. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **93**, 295-304. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2009.00923.x>
- [31] Pastor, A., Wecke, C. and Liebert, F. (2013) Assessing the Age-Dependent Optimal Dietary Branched-Chain Amino Acid Ratio in Growing Chicken by Application of a Nonlinear Modeling Procedure. *Poultry Science*, **92**, 3184-3195. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03340>
- [32] Neumann, C., Velten, S. and Liebert, F. (2018) Improving the Dietary Protein Quality by Amino Acid Fortification with a High Inclusion Level of Micro Algae (*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) in Meat Type Chicken Diets. *Open Journal of Animal Sciences*, **8**, 12-26. <https://doi.org/10.4236/ojas.2018.81002>
- [33] Elwert, C., Knips, I. and Katz, H. (2010) A Novel Protein Source: Maggot Meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) in Broiler Feed. In: Gierus, M., Kluth, H., Bulang, M. and Kluge, H., Eds., 11. *Tagung Schweine und Geflügelernährung*, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Universität Halle Wittenberg, 140-142.
- [34] Venkataraman, L.V., Somasekaran, T. and Becker, E.W. (1994) Replacement Value of Blue-Green Alga (*Spirulina platensis*) for Fishmeal and a Vitamin-Mineral Premix for Broiler Chicks. *British Poultry Science*, **35**, 373-381. <https://doi.org/10.1080/00071669408417702>
- [35] Grewe, C.B. and Pulz, O. (2012) The Biotechnology of Cyanobacteria. In: Whitton, B.A., Ed., *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*, Springer, Dordrecht, 707-739. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_26
- [36] Devi, M.A., Subbulakshmi, G., Devi, K.M. and Venkataraman, L.V. (1981) Studies on the Proteins of Mass-Cultivated, Blue-Green Alga (*Spirulina platensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **29**, 522-525. <https://doi.org/10.1021/jf00105a022>
- [37] Becker, E.W. (2004) Microalgae in Human and Animal Nutrition. In: Richmond, A., Ed., *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, Blackwell Science, Oxford, 312-351.
- [38] Schiavone, A., DE Marco, M., Martinez, S., Dabbou, S., Renna, M., Madrid, J., Hernandez, F., Rotolo, L., Costa, P., Gai, F. and Gasso, L. (2017) Nutritional Value of a Partially Defatted and a Highly Defatted Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens* L.) Meal for Broiler Chickens: Apparent Nutrient Digestibility, Apparent Metabolizable Energy and Apparent Ileal Amino Acid Digestibility. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, **8**, 51. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0181-5>

13.3 Publikation 3

N Balance Studies Emphasize the Superior Protein Quality of Pig Diets at High Inclusion Level of Algae Meal (*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) when Adequate Amino Acid Supplementation is Ensured

von

Neumann, C., Velten, S. und Liebert, F.

2018 *Animals*, **8**, 1-14

<https://doi.org/10.3390/ani8100172>

Article

N Balance Studies Emphasize the Superior Protein Quality of Pig Diets at High Inclusion Level of Algae Meal (*Spirulina platensis*) or Insect Meal (*Hermetia illucens*) when Adequate Amino Acid Supplementation Is Ensured

Carmen Neumann, Susanne Velten and Frank Liebert *

Department of Animal Sciences, Division Animal Nutrition Physiology, Georg-August-University of Goettingen, Kellnerweg 6, 37077 Goettingen, Germany; carmen.neumann@agr.uni-goettingen.de (C.N.); susanne.velten@agr.uni-goettingen.de (S.V.)

* Correspondence: flieber@gwdg.de; Tel.: +49-551-39-33331

Received: 6 September 2018; Accepted: 29 September 2018; Published: 3 October 2018



Simple Summary: This study aimed to evaluate diets with complete substitution of soybean meal (SBM) by an algae meal from *Spirulina platensis* (SM) or partly defatted larvae meal from *Hermetia illucens* (HM) as feed for piglets and growing pigs. Main feed ingredients of the experimental diets were wheat, barley, and SM or HM. The final diets contained 21% (piglets) and 13% (growing pigs) of SM or HM and nitrogen (N) balance studies were applied to measure parameters of apparent N digestibility, complex dietary protein quality, and individual amino acid (AA) efficiency according to the ‘Goettingen approach’. Diets were well accepted by the animals and an extended level of AA supplementation yielded improved dietary protein quality with both of the alternative feed proteins. However, HM based diets provided superior apparent N digestibility.

Abstract: Two age-dependent nitrogen (N) balance studies (average body mass 25 and 60 kg) utilized 16 male castrated piglets and 16 barrows to measure N utilization parameters of diets with complete substitution of SBM by alternative protein sources (SM, HM), but different AA fortifications. Lysine supplementation up to 80% of the recommended lysine (Lys) supply in diets HM (A) and SM (A) yielded similar protein quality data (63.6 ± 2.1 and 63.7 ± 3.4). Surprisingly, only in piglet diet HM (AA) did the extended AA supplementation (Lys, methionine (Met), threonine (Thr)) enhance protein quality (72.8 ± 6.7) significantly ($p = 0.004$). Similar trends were observed in growing pigs. However, when the level of histidine (His) in diet SM (AA) was increased, feed protein quality (71.8 ± 1.3) was significantly ($p < 0.001$) improved indicating the importance of adequate His supply in diets with a complete substitution of SBM by the algae meal (SM) under study. AA efficiency data extend the possibilities to explain the observed responses on protein quality. When an adequate AA balancing in the diet is guaranteed, from nutritional point of view both of the alternative proteins may replace SBM in pig diets.

Keywords: piglets; growing pigs; N balance; N utilization model; amino acids; protein quality; apparent N digestibility; amino acid efficiency

1. Introduction

The world population has been steadily growing in recent decades, and by 2050 a figure of 9.7 billion people is forecasted, coinciding with a 70% increase in the demand for food [1]. With changing consumption patterns, meat shares an increasing part of this growing demand for

food [2]. World meat production is expected to increase from 320 million tonnes in 2016 to 360 million tonnes in 2025, with pork meat accounting for 36% of world meat production [3] with a growth rate of 12%. Accordingly, large quantities of feed protein will be needed, and as it currently stands soybean products are the main protein ingredients in pig diets. Therefore, they act as a reference in the hunt for alternative sources to meet future protein demands. However, suitable feed alternatives are still needed [4,5]. Algae production could also be an acceptable alternative, because this type of aquatic biomass grows adequately with only marginal land use [4]. Additionally, insects could be an alternative protein source because they can be reared on grain and the larvae grow rapidly. The microalga *Spirulina platensis* is a prokaryotic multicellular cyanobacterium. Spirulina alga belongs to the photosynthetic organisms and grows only in warm climates with high light intensity. Natural environmental conditions are alkaline salt lakes as well as basic fresh water bodies. The black soldier fly *Hermetia illucens* is a widespread fly and belongs to the family of Stratiomyidae, which is a member of the order Diptera. The larvae of *Hermetia* are able to utilize a wide range of nutrient sources and develop rapidly between 20 °C and 30 °C. More details about the alternative proteins are presented earlier [6–9]. Generally, both of the alternative proteins have the potential for being included as a protein source in animal feeds. Currently, there are only a few studies about Spirulina in piglet and pig diets, mostly dealing with health-promoting aspects of the microalga [10,11]. Earlier studies [12,13] examined the growth response of piglets with higher inclusion rates of Spirulina meal (8% to 12%) without negative effects. *Hermetia* also appears to be an adequate protein source; Newton et al. [14] demonstrated the acceptance of diets containing up to 33% full-fat meal from *Hermetia* larvae as the main protein source in pig diets. Dankwa et al. [15] substituted 100% of the fishmeal content in weaned piglet diets by non-defatted housefly larvae meal without a reduction in growth. Experiments by Ji et al. [16] on early weaned piglets showed that 5% of plasma proteins in diets can be replaced by various insect meals (mealworm (*Tenebrio molitor*), house fly larvae (*Musca domestica*), and large mealworm (*Zophobas morio*)) and induce no significant deficiencies in feed intake and growth performance. As a part of the multidisciplinary project “Sustainability Transitions in the Food Chain” (supported by the Lower Saxony Ministry of Science and Culture) the current study aimed to measure the protein quality of piglet and fattening pig diets based on N balance studies with a high inclusion of partly defatted *Hermetia* meal (HM) or Spirulina meal (SM) with a graded extent of AA supplementation.

2. Materials and Methods

The N balance studies were conducted at facilities of the Division Animal Nutrition Physiology of Georg-August-University of Goettingen and permitted (03.2016/AZ15/2027) by the Ethics Committee of the Lower Saxony Federal Office for Consumer Protection and Food Safety (LAVES), Germany.

2.1. Alternative Protein Sources

The analyzed nutrient composition of the alternative protein sources are summarized in Table 1. The microalgae powder of *Spirulina platensis* was a sun-dried commercial product obtained from Myanmar and declared to be free of genetically modified organism (GMO), irradiation, pesticides, colorants, preservatives, and additives. As demonstrated by the nutrient composition (Table 1), the lipid fraction was not extracted from the algae meal. The microcystine content was analyzed by an external laboratory (TeLA GmbH, Geestland, Germany) and remained under the detection limit. The insect meal was obtained from a commercial producer (*Hermetia* Futtermittel GbR, Baruth/Mark, Germany). Black soldier fly larvae were separated from the substrate (rye flour, wheat bran) after 20 days, dried for 14 h at 65 °C to 70 °C and following partial defatting with a screw press were finally ground into a meal. The process of partial defatting is needed to improve the handling of the insect meal as a feed ingredient in compound feeds.

Table 1. Analyzed crude nutrient composition (% of DM) and amino acid content of *Spirulina platensis* and *Hermetia illucens* meals as applied for diet formulation.

Nutrient Content	Spirulina Meal (SM)		Hermetia Meal (HM)	
Moisture (%)	3.4		5.5	
Crude protein	58.8		60.8	
Crude ash	6.1		7.5	
Crude lipids	4.3		14.1	
Crude fiber	0.5 *		10.9	
AA Contents	mgAA/gDM	gAA/16gN	mgAA/gDM	gAA/16gN
Lys	22.97	3.91	32.97	5.42
Met	10.61	1.81	7.53	1.24
Cys	4.53	0.77	4.89	0.80
Thr	25.77	4.39	21.70	3.57
Arg	39.92	6.79	25.05	4.12
Val	34.50	5.87	32.58	5.36
Leu	47.23	8.04	37.95	6.24
Ile	29.81	5.07	23.47	3.86
His	7.51	1.28	16.58	2.73

DM: dry matter; AA: amino acid; N: nitrogen. * Preliminary data due to difficulties in application of the standard procedure.

2.2. Stock and Husbandry

16 piglets and 16 growing pigs of the same genotype (PIC 408 (Large White × German Landrace)), both male castrated, were raised under farming conditions until 25 kg (origin: Gebrueder Weisskittel KG, Hardegsen Troegen, Germany) and utilized for age dependent N balance studies (average body weight 25 and 60 kg). During the experiments, both piglets and growing pigs were housed in metabolism cages for five days of adaptation and two consecutive collection periods (five days each). Metabolism cages allow the separate quantitative collection of feces and urine from individual pigs. Between N balance periods, pigs were kept in floor pens (3 m²) with a controlled supply of standardized mixed feeds (single feeding) according to body weight (BW) development.

2.3. Diets and Feeding

Experimental diets were manufactured at the facilities of the Division Animal Nutrition Physiology of the University of Goettingen. In both of the age periods under study (piglets 25 kg average BW; growing pigs 60 kg average BW), the 16 pigs were randomly allotted to four pelleted diets (Table 2). The main feed ingredients were wheat, barley, and HM or SM. Consequently, the final diets contained 21% (piglets) and 13% (growing pigs) SM or HM in order to achieve the recommended dietary crude protein (CP) level (19% piglets, 16% growing pigs). In both of the age periods, diets HM (A) and SM (A) were only supplemented with Lys in order to achieve 80% of the recommended Lys supply [17]. Piglet diets HM (AA) and SM (AA) were fortified with an extended AA supplementation (Lys, Met, Thr) according to the recommended ideal AA ratio [17]. For growing pigs, diet HM (AA) was also supplemented according to the ideal AA ratio; however, diet SM (AA) was treated separately to yield more information about the limiting position of histidine (His) in diets with high inclusion level of algae meal. In the first collection period (diet SM¹(AA)), only an elevated level of Lys was added, but in the second collection period (diet SM²(AA)) His was also supplemented to meet the His recommendation according to National Research Council (NRC) [18] and British Society of Animal Science (BSAS) [19]. Through this procedure it was aimed to demonstrate if His is in the limiting position with diet SM¹(AA).

Table 2. Ingredient composition (g/kg as-fed) and analyzed crude nutrients (g/kgDM).

Ingredients/Diets	Piglets (25 kg)				Growing Pigs (60 kg)				
	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM (AA)	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM ¹ (AA)	SM ² (AA)
Ingredients (g/kg as-fed)									
Wheat	339.2	347.4	336.2	345.2	400.7	405.7	399.1	404.5	404.0
Barley	339.2	347.4	336.2	345.2	400.7	405.7	399.1	404.5	404.0
Spirulina meal	-	210.0	-	210.0	-	130.0	-	130.0	130.0
Hermetia meal	210.0	-	210.0	-	130.0	-	130.0	-	-
Soybean oil	80.0	62.0	80.0	62.0	46.0	35.0	46.0	35.0	35.0
Premix ¹	15.0	15.0	15.0	15.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
CaCO ₃	10.0	10.0	10.0	10.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
NaCl	1.0	1.0	1.0	1.0	-	-	-	-	-
Titanium dioxide	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
L-Lysine-HCl	2.7	4.3	6.1	7.6	1.7	2.7	4.2	5.1	5.1
DL-Methionine	-	-	1.4	0.7	-	-	0.2	-	-
L-Threonine	-	-	1.1	0.3	-	-	0.4	-	-
L-Histidine	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
Crude nutrients (g/kgDM)									
Crude protein	210.7	221.8	227.3	222.1	182.8	189.0	178.7	181.2	186.7
Crude fat	133.7	100.1	139.6	99.1	91.8	69.7	95.0	68.4	65.4
Crude fiber	52.7	29.1	48.1	30.6	45.1	38.9	52.3	39.6	30.2
Crude ash	52.7	51.1	53.2	50.3	44.2	42.1	45.2	43.0	42.4
N-free extract	550.2	597.9	531.8	597.9	636.1	660.3	628.8	667.8	675.3
ME (MJ/kgDM) ²	17.1	17.0	17.1	17.0	16.4	16.3	16.4	16.3	16.3

HM (A): Hermetia meal with Lys (80%); SM (A): Spirulina meal with Lys (80%); HM (AA): Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA): Spirulina meal with extended AA supply; SM¹(AA): Spirulina meal with extended AA supply collection period 1; SM²(AA): Spirulina meal with extended AA supply collection period 2. ¹ Supplementation of piglet diets (per kg of final diet): Ca, 0.18%; P, 0.21%; Na, 0.008%; Mg, 0.01%; vitamin A, 9000 IU; vitamin D3, 1050 IU; vitamin E, 52.5 mg; thiamine, 1.5 mg; riboflavin, 4.5 mg; vitamin B6, 3.8 mg; vitamin B12, 30 µg; vitamin K3, 3 mg; nicotinic acid, 18.8 mg; calcium pantothenate, 11.3 mg; folic acid, 1.1 mg; biotin, 225 µg; choline chloride, 525 mg; iron, 150 mg; copper, 30 mg; manganese, 37.5 mg; zinc, 150 mg; iodine, 0.23 mg; selenium, 0.23 mg; phytase (EC 3.1.3.8), 501 FTU; supplementation of diets for growing pigs (per kg of final diet): Ca, 0.14%; P, 0.10%; Na, 0.12%; vitamin A, 4000 IU; vitamin D3, 500 IU; vitamin E, 40 mg; thiamine, 1.5 mg; riboflavin, 6.0 mg; vitamin B6, 3 mg; vitamin B12, 30 µg; vitamin K3, 3 mg; nicotinic acid, 20.0 mg; calcium pantothenate, 12.0 mg; folic acid, 0.5 mg; biotin, 100 µg; choline chloride, 100 mg; iron, 80 mg; copper, 5 mg; manganese, 27.5 mg; zinc, 75 mg; iodine, 0.68 mg; selenium, 0.2 mg; phytase (EC 3.1.3.8), 500 FTU. ² Metabolizable energy (ME), calculated according to fed calculation program Hybrimin® (Vers. 8, Hybrimin® GmbH & Co. KG, Hessisch Oldendorf, Germany) on analyzed crude nutrient content.

As demonstrated by the analyzed nutrient composition of the diets (Table 2), crude protein (CP) content and calculated metabolizable energy (ME) concentration in the dry matter (DM) were very similar within the age periods. Crude fiber (CF) contents ranged between 29.1 and 52.7 g/kg DM (piglet diets) or 30.2 and 52.3 g/kg DM (pig diets). CF contents were generally lower in Spirulina diets due to the fact that Spirulina does not contain cellulose in the cell wall. Crude ash (CA) contents were very similar in piglet (50.3 to 53.2 g/kg DM) and pig (42.1 to 45.2 g/kg DM) diets. Due to the remaining fat content in the partly defatted insect meal, crude fat contents were elevated in HM diets. The defatting of insect meals was conducted under commercial conditions by a screw press.

The AA composition of the experimental piglet diets as related to official recommendations [17–19] for selected AAs are presented in Table 3. Regarding the diets HM (A) and SM (A) with a basic level of AA supplementation, it is obvious that the supply of several AAs was below the recommendations. In diet HM (A), Lys, methionine and cysteine (Met + Cys), Thr, and leucine (Leu) are deficient. In diet SM (A), the supply of Lys, Met + Cys, Thr, and His is insufficient. In diets of HM (AA) and SM (AA), an improved dietary AA balance was aimed at making use of an extended level of AA supplementation. Consequently, in diet HM (AA) only Leu remained as a potential limiting AA (6% below recommendation). In diet SM (AA) this was the case for His (30% below the recommendation). The aim was not to compensate these AA deficiencies, rather to yield first experimental data about the dietary AA efficiency of these AAs according to applications of the ‘Goettingen approach’.

Table 3. Recommended and achieved AA supply¹ (in g/kg as-fed resp. in percent of the recommendation) in piglet diets under study.

	Lys	Met + Cys	Thr	Val	Leu	Ile	His ³
Recommendation ²	12.70 (100)	6.35 (100)	7.62 (100)	7.87 (100)	12.70 (100)	6.22 (100)	4.32 (100)
HM (A)	10.94 (86)	5.14 (81)	6.52 (86)	9.46 (120)	11.95 (94)	6.88 (111)	4.84 (112)
SM (A)	10.15 (80)	5.70 (90)	7.31 (96)	9.81 (125)	13.77 (108)	8.12 (131)	3.02 (70)
HM (AA)	13.57 (107)	6.49 (102)	7.58 (100)	9.43 (120)	11.91 (94)	6.86 (110)	4.82 (112)
SM (AA)	12.71 (100)	6.37 (100)	7.59 (100)	9.97 (127)	13.74 (108)	8.10 (130)	3.01 (70)

AA: amino acid; HM (A): Hermetia meal with Lys (80%); SM (A): Spirulina meal with Lys (80%); HM (AA): Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA): Spirulina meal with extended AA supply. ¹ Derived from analyzed AA content of the ingredients. ² According to Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE) [17]. ³ According to NRC [18] and BSAS [19].

A similar procedure was applied for the growing pig diets (Table 4). Accordingly, in diet HM (A) the supply of Lys, Met + Cys, Thr, and Leu remained suboptimal; in diet SM (A) Lys and His were below the recommendations. These deficiencies were mostly balanced in diets HM (AA), SM¹(AA), and SM²(AA). A remarkable limitation remained only in diet SM¹(AA) where His was 18% below the recommendation. This limitation was aimed to be compensated by adding His in diet SM²(AA) and the effect on dietary protein quality should be measurable through the response in the N balance.

Table 4. Recommended and achieved AA supply¹ (in g/kg as-fed resp. percent of the recommendation) in growing pig diets.

	Lys	Met + Cys	Thr	Val	Leu	Ile	His ³
Recommendation ²	9.40 (100)	4.79 (100)	5.64 (100)	6.11 (100)	9.87 (100)	4.61 (100)	3.29 (100)
HM (A)	8.03 (85)	4.66 (97)	5.25 (93)	7.49 (123)	9.81 (99)	5.47 (119)	3.83 (116)
SM (A)	7.55 (80)	5.01 (105)	5.73 (102)	7.70 (126)	10.94 (111)	6.24 (135)	2.71 (82)
HM (AA)	9.97 (106)	4.85 (101)	5.63 (100)	7.47 (122)	9.79 (99)	5.46 (118)	3.83 (116)
SM ¹ (AA)	9.41 (100)	5.00 (104)	5.73 (102)	7.69 (126)	10.93 (111)	6.23 (135)	2.71 (82)
SM ² (AA)	9.41 (100)	5.00 (104)	5.72 (102)	7.68 (126)	10.92 (111)	6.23 (135)	3.68 (112)

AA: amino acid; HM (A): Hermetia meal with Lys (80%); SM (A): Spirulina meal with Lys (80%); HM (AA): Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA): Spirulina meal with extended AA supply; SM¹(AA): Spirulina meal with extended AA supply collection period 1; SM²(AA): Spirulina meal with extended AA supply collection period 2. ¹ Derived from analyzed AA content of the ingredients. ² According to GfE [17]. ³ According to NRC [18] and BSAS [19].

2.4. Collection and Sampling

Pigs were individually weighed at the beginning of the adaption period, as well as at the beginning and the end of the corresponding collection periods. Feed intake was recorded daily within the collection periods, feces were quantitatively collected twice a day during feeding times and immediately frozen (−20 °C). At the end of the collection periods, individual fecal samples were weighed, homogenized, and sampled for further chemical analyses while frozen. To minimize ammonia losses from urine, 50 mL (piglets) or 60 mL (pigs) of sulfuric acid (30%) was added to ensure an acid pH (<2) during urine collection. Aliquot urine samples (10%) were taken daily, mixed carefully, and sampled for nitrogen analysis.

2.5. Chemical Analyses

Dietary ingredients, experimental diets, and excreta were carefully homogenized and analyzed according to the German standards [20]. Before analyses, feed ingredients and feed mixtures were ground to 1 mm dimensions. Nitrogen content of feed and feces was measured by the Dumas method (TruMac[®], Leco Instrument GmbH, Moenchenglbadach, Germany) and the fraction of CP was calculated with a factor of 6.25. The urine samples were analyzed by total nitrogen according to Kjeldahl (Vapodest[®], Gerhardt GmbH and Co.KG, Koenigswinter, Germany). AA composition of the alternative protein sources was detected by ion-exchange chromatography (Biochrom[®] 30, Biochrom

Ltd. Cambridge, England) using acid hydrolysis without and with an oxidation step for quantitative determination of sulfur-containing amino acids. According to earlier reports [6–9] the presented dietary AA composition was based on previous ingredient AA analyses according to the German standards [20] ether extracts were analyzed following HCl hydrolysis of the feed samples.

2.6. Nitrogen Balance Data

The processing of N balance data was done according to the current applications of the ‘Goettingen approach’ [21–26] making use of the exponential N utilization model created by Gebhardt [27]. This modelling procedure for N metabolism of growing animals works superior to traditional protein evaluation parameters who are significantly influenced by the level of individual feed intake. This factor of influence may create misleading conclusions about dietary protein quality.

The basic function is an expression of body N retention dependent on N intake taking into account the feed protein quality:

$$NR = NR_{max}T \left(1 - e^{-b \times NI}\right) \quad (1)$$

$$ND = NR_{max}T \left(1 - e^{-b \times NI}\right) - NMR \quad (2)$$

whereby, NR = daily N retention ($ND + NMR$) [$\text{mg}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$], ND = daily N deposition or N balance ($\text{mg}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$), NMR = daily N maintenance requirement ($\text{mg}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$), $NR_{max}T$ = theoretical maximum for daily N retention ($\text{mg}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$), b = model parameter for the slope of the function between NI and NR , depending on the dietary protein quality, NI = daily N intake ($\text{mg}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$), e = basic number of natural logarithm (ln).

The genotype dependent model parameters for daily NMR (piglets: $433 \text{ mgN}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$; pigs: $388 \text{ mgN}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$) and $NR_{max}T$ (piglets: $4697 \text{ mgN}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$; growing pigs: $3104 \text{ mgN}/\text{BW}_{\text{kg}}^{0.67}$) were taken from earlier studies [28,29]. According to recent reports making use of the exponential model [6,7,21–24,26,30–35], the dietary protein quality was evaluated by parameter (b) based on the equation:

$$b = \frac{[lnNR_{max}T - ln(NR_{max}T - NR)]}{NI} \quad (3)$$

Equation (3) is the result of the logarithmization and transformation of Equation (1).

Earlier reports [36,37] have already stated that the concentration (c) of the limiting amino acid (LAA) in the feed protein and the resulting dietary protein quality (model parameter b) are linearly related. In consequence, quotient bc^{-1} defines the slope of the linear relationship and is an expression of the efficiency of the LAA in the dietary protein [38–40], taking into account digestion, absorption, and post absorptive AA utilization. Data analysis is based on total AA, but considers the observed AA efficiency.

$$bc^{-1} = \frac{b}{c} \quad (4)$$

where bc^{-1} is the slope between c and b , indicating the efficiency of LAA utilization; b is the model parameter of dietary protein quality, and c is the concentration of the LAA in the feed protein ($\text{g}/100 \text{ g}$ of CP).

The relationship between c and b is only expressive in terms of AA efficiency in case of a validated limiting position of the AA under study.

Additionally, traditional parameters like the productive protein value (PPV) and net protein utilization (NPU) were applied to evaluate the complex dietary protein quality by taking into account the processes involved in digestion and post-absorptive utilization.

$$PPV (\%) = \frac{ND}{NI} \times 100 \quad (5)$$

$$NPU (\%) = \frac{NR}{NI} \times 100 \quad (6)$$

However, the traditional protein quality measures (*PPV* and *NPU*) are not independent of the level of actual protein intake (*NI*) [28,38,41]. Consequently, a standardization of protein intake was conducted according to Thong and Liebert [38], providing *NPU* data which are independent of *NI* [28,32,38].

Accordingly, standardized net protein utilization (NPU_{std}) was calculated (Equation (7)) for equal daily nitrogen intake (piglets: NI_{std} : 3500 mgN/BW_{kg}^{0.67}, pigs: NI_{std} : 3800 mgN/BW_{kg}^{0.67}) to ensure the comparability of derived *NPU* data:

$$NPU_{std} (\%) = \frac{NR_{max}T \left(1 - e^{-bNI_{std}}\right)}{NI_{std}} \times 100 \quad (7)$$

Accordingly, NPU_{std} is applied for evaluating the dietary effects on protein quality in this study. The apparent fecal digestibility of N is calculated according to Equation (8):

$$VQ_N(\%) = \left(\frac{I - F}{I}\right) \times 100 \quad (8)$$

whereby, VQ_N = Apparent digestibility of N (%), I = Intake of N (gDM/d), F = Output of N through feces (gDM/d).

2.7. Statistical Analyses

Statistical analyses were conducted with the SPSS software package (IBM SPSS Statistics, Version 24.0, IBM Corp, Armonk, NY, USA) and results are presented as means \pm standard deviation. Different superscript letters are indicating significant differences between the experimental diets. One-way analysis of variance (ANOVA) tests were performed to compare means of the primary N balance data. To verify the variance homogeneity and identification of significant differences ($p \leq 0.05$) the Games-Howell and Tukey tests were applied. Outliers were identified according to the procedure of Dixon and Massey [42].

3. Results

The results of the piglet N balance trials are summarized in Table 5. Between the four experimental diets no significant differences in body weight (BW) ($p = 0.736$), feed intake ($p = 0.224$) and N intake ($p = 0.257$) were observed. Fecal N excretions were enhanced ($p = 0.004$) in the diets HM (A) (717 ± 60), SM (A) (841 ± 132) and SM (AA) (745 ± 123). Superior urine N excretion was observed both with diets HM (A) (1087 ± 118) and SM (A) (958 ± 121), which did not have an extended AA supplementation. Total N excretion was lowest with diet HM (AA) (1463 ± 146), but was not significantly different from diet SM (AA) (1584 ± 285). Daily N balance data were also the highest with diet HM (AA) (2182 ± 325), but again were only numerically different between diets ($p = 0.053$). According to the observed fecal N excretion, HM diets yielded superior apparent N digestibility. As compared to diet HM (A), the extended AA supplementation in diet HM (AA) responded significantly ($p = 0.004$) in dietary protein quality (NPU_{std}). This effect was less pronounced between the SM diets.

Table 5. Summarized results of the N balance study with piglets (BW 25 kg)

Diets	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM (AA)	SEM	<i>p</i>
<i>n</i>	7 ¹	8	8	8		
Mean BW (kg)	25.7 ± 2.5	25.5 ± 3.1	26.5 ± 2.2	25.1 ± 2.0	0.433	0.736
DM intake (g/d)	944 ± 103	928 ± 87	935 ± 86	832 ± 168	21.536	0.224
N intake (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	3675 ± 179	3666 ± 274	3645 ± 226	3361 ± 579	65.224	0.257
N excretion feces (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	717 ^{ab} ± 60	841 ^b ± 132	620 ^a ± 94	745 ^{ab} ± 123	23.388	0.004
N excretion urine (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	1087 ^b ± 118	958 ^{ab} ± 121	843 ^a ± 155	839 ^a ± 172	30.553	0.007
N excretion total (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	1805 ^b ± 108	1799 ^b ± 157	1463 ^a ± 146	1584 ^{ab} ± 289	41.916	0.040
N balance (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	1870 ± 121	1867 ± 199	2182 ± 325	1777 ± 420	57.647	0.053
Apparent N digestibility (%)	80.5 ^{ab} ± 1.8	77.1 ^a ± 2.7	82.9 ^b ± 3.2	77.7 ^a ± 2.7	0.625	0.001
Model parameter b (×10 ⁶) ²	184 ^a ± 8	184 ^a ± 14	225 ^b ± 30	191 ^{ab} ± 27	4.884	0.003
NPU _{std} (%) ³	63.6 ^a ± 2.1	63.7 ^a ± 3.4	72.8 ^b ± 6.7	65.2 ^{ab} ± 6.6	1.124	0.004
AA efficiency						
bc ⁻¹ _{Lys} (×10 ⁶)	32 ^{ab} ± 1	35 ^b ± 3	33 ^{ab} ± 4	30 ^a ± 4	0.685	0.032
bc ⁻¹ _{Met} (×10 ⁶)	137 ^b ± 6	112 ^a ± 8	112 ^a ± 15	97 ^a ± 14	3.194	<0.001
bc ⁻¹ _{Thr} (×10 ⁶)	54 ^b ± 3	49 ^{ab} ± 4	58 ^b ± 8	50 ^{ab} ± 7	1.206	0.026
bc ⁻¹ _{Leu} (×10 ⁶)	30 ^b ± 1	26 ^a ± 2	37 ^c ± 5	27 ^{ab} ± 4	0.982	<0.001
bc ⁻¹ _{His} (×10 ⁶)	73 ^a ± 3	118 ^c ± 9	91 ^b ± 12	125 ^c ± 18	4.275	<0.001

BW: body weight; DM: dry matter; NPU_{std}: standardized net protein utilization; HM (A): Hermetia meal with Lys (80%); SM (A): Spirulina meal with Lys (80%); HM (AA): Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA): Spirulina meal with extended AA supply; SEM: standard error of the mean; *p*: *p*-value; ^{a-c} values within a row with different superscripts are significantly different (*p* < 0.05). ¹ Outlier ($\alpha = 0.05$) according to Dixon and Massey [42].

² Applied for NPU standardization based on: NMR = 433 mg/BW_{kg}^{0.67}/d; NRmaxT = 4697 mg/BW_{kg}^{0.67}/d.

³ Standardized daily N intake = 3500 mg/BW_{kg}^{0.67}.

The observed bc⁻¹ values (Table 5) are a reflection of the individual AA efficiency and need to be compared between the diets, while contextualized with the degree of limiting position as related to the other AAs under study (Tables 3 and 4). Between piglet diets, the highest Lys efficiency (35 ± 3) was observed in diet SM (A), but this was only significantly different (*p* = 0.032) from diet SM (AA) (30 ± 4) with its Lys supply according to the recommendations. Superior Met efficiency (137 ± 6) was achieved with diet HM (A) having the lowest Met supply, which indicated that Met was the most limiting AA in this diet. A significant difference in Thr efficiency between diets was not observed, but the observed trends require discussion. The extended degree of AA supplementation in diet HM (AA) provided superior Leu efficiency (37 ± 5) indicating the strong limiting position of Leu in this diet. Accordingly, SM diets yielded a significantly (*p* < 0.001) higher His efficiency (118 ± 9 and 125 ± 18) as compared to HM (73 ± 3 and 91 ± 12) diets, supporting the strong His limitation as calculated (Table 3) in both of the SM diets.

Results of the N balance study with growing pigs (Table 6) also indicate that the diets with basic AA supplementation are inferior as compared to the diets with extended AA fortification. In addition, both of the HM diets created less fecal N excretion (*p* < 0.001) and in consequence have significantly higher (*p* < 0.001) N digestibility compared to the SM based diets. The urine N losses were significantly decreased (*p* < 0.001) both with diet SM¹(AA) (971 ± 111) and SM²(AA) (967 ± 50). Resulting N balance data were similar in diets HM (A) (1718 ± 241), SM (A) (1847 ± 135), HM (AA) (2054 ± 272), and SM¹(AA) (1915 ± 126). However, due to the addition of L-His, diet SM²(AA) created a significantly improved (*p* < 0.001) daily N balance (2411 ± 55). Looking more closely at the NPU_{std}, an enhanced protein quality was found with diets on the extended degree of AA supplementation, and the superior protein quality (*p* < 0.001) was achieved in diet SM²(AA) (71.8 ± 1.3) due to the compensated His deficiency. Excluding the consideration of the preliminary results in diet SM²(AA), diet SM¹(AA) yielded superior His efficiency (*p* < 0.001), indicating the validated limiting position of His in this diet.

Lys efficiency did not significantly differ amongst the other diets, but the observed trend between diet HM (A) (60 ± 11) and HM (AA) (68 ± 19) was unexpected. Regarding the Met efficiency, the highest bc^{-1} (285 ± 78) value for diet HM (AA) could indicate that Met supply was still nearly limiting in the AA balanced diet HM (AA), but both the observed Thr efficiency and Leu efficiency could reflect a co-limiting situation.

Table 6. Summarized results of the N balance study with growing pigs (BW 60 kg).

Diets	HM (A)	SM (A)	HM (AA)	SM ¹ (AA)	SM ² (AA)	SEM	<i>p</i>
<i>n</i>	8	8	8	4	3 ¹		
Mean BW (kg)	60.5 ± 4.8	58.4 ± 3.8	61.8 ± 3.2	56.3 ± 3.8	60.6 ± 4.5	0.744	0.206
DM intake (g/d)	2064 ^{ab} ± 186	2106 ^b ± 172	2109 ^b ± 188	1864 ^a ± 23	2229 ^b ± 79	32.464	0.073
N intake (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	3769 ^{ab} ± 252	3957 ^{ab} ± 255	3850 ^{ab} ± 238	3642 ^a ± 151	4179 ^b ± 56	46.477	0.036
N excretion feces (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	604 ^a ± 79	810 ^b ± 49	586 ^a ± 69	756 ^b ± 96	801 ^b ± 51	21.749	<0.001
N excretion urine (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	1447 ^b ± 199	1301 ^b ± 144	1210 ^{ab} ± 231	971 ^a ± 111	967 ^a ± 50	43.150	<0.001
N excretion total (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	2052 ^{ab} ± 241	2110 ^b ± 176	1796 ^{ab} ± 239	1726 ^a ± 189	1767 ^{ab} ± 1.5	45.170	0.007
N balance (mg/BW _{kg} ^{0.67} /d)	1718 ^a ± 241	1847 ^a ± 135	2054 ^{ab} ± 272	1915 ^a ± 126	2411 ^b ± 55	50.149	<0.001
Apparent N digestibility (%)	84.0 ^b ± 1.5	79.1 ^a ± 1.2	84.8 ^b ± 1.5	79.3 ^a ± 1.9	80.8 ^a ± 1.0	0.496	<0.001
Model parameter b (×10 ⁶) ²	307 ^a ± 55	324 ^a ± 27	424 ^a ± 116	375 ^a ± 44	558 ^b ± 36	18.166	<0.001
NPU _{std} (%) ³	55.7 ^a ± 5.6	57.7 ^a ± 2.5	64.1 ^{ab} ± 6.6	61.8 ^a ± 3.4	71.8 ^b ± 1.3	1.200	<0.001
AA efficiency							
bc^{-1}_{Lys} (×10 ⁶)	60 ^a ± 11	68 ^a ± 6	68 ^a ± 19	64 ^a ± 8	96 ^b ± 6	2.667	0.004
bc^{-1}_{Met} (×10 ⁶)	221 ^a ± 40	200 ^a ± 16	285 ^{ab} ± 78	235 ^a ± 28	353 ^b ± 59	11.728	<0.001
bc^{-1}_{Thr} (×10 ⁶)	92 ^a ± 17	90 ^a ± 7	127 ^{ab} ± 35	105 ^a ± 12	158 ^b ± 10	5.328	<0.001
bc^{-1}_{Leu} (×10 ⁶)	49 ^{ab} ± 9	47 ^a ± 4	69 ^{bc} ± 19	55 ^{ab} ± 7	83 ^c ± 5	2.900	<0.001
bc^{-1}_{His} (×10 ⁶)	126 ^a ± 23	189 ^b ± 16	177 ^{ab} ± 49	222 ^{bc} ± 26	245 ^c ± 16	8.564	<0.001

BW: body weight; DM: dry matter; NPU_{std}: standardized net protein utilization; HM (A): Hermetia meal with Lys (80%); SM (A): Spirulina meal with Lys (80%); HM (AA): Hermetia meal with extended AA supply; SM (AA): Spirulina meal with extended AA supply; SEM: standard error of the mean; *p*: *p*-value; ^{a-c} values within a row with different superscripts are significantly different (*p* < 0.05). ¹ Outlier ($\alpha = 0.2$) according to Dixon and Massey [42].

² Applied for NPU standardization based on: $NMR = 388 \text{ mg/BW}_{kg}^{0.67}/d$; $NR_{max}T = 3104 \text{ mg/BW}_{kg}^{0.67}/d$.

³ Standardized daily N intake = $3800 \text{ mg/BW}_{kg}^{0.67}$.

4. Discussion

In the current studies, no significant effects were observed for average body weight of piglets or growing pigs. In addition, we found no significant influence on feed intake for piglets, but did observe an effect for growing pigs. However, these parameters were only measured within the time schedule of N balance studies and should not be over-interpreted, but were eliminated for protein quality evaluation by the applied modelling procedure (Goettingen approach). A few previous studies have already demonstrated that SM could be a good protein source in pig diets [10,12,13,43]. Grinstead et al. [10] examined graded contents of SM (2–20 g/kg) in diets for weaned piglets. Pigs that received 20 g Spirulina per kg feed had significantly higher feed intake and higher daily gains than the control group. Pig diets with 12% SM [12], 9% SM [13] or at least half of the protein from soybean meal substituted by algae meal [43] created no adverse effects on growth performance. Other studies have also reported that pig diets containing insect meals are well accepted [14,16,44]. Pig diets with 5% insect meals (*Tenebrio molitor*, *Musca domestica* larvae, and *Zophobas morio*) substituting 5% plasma protein powder [44] or 6% mealworm meal instead of SBM [16] yielded no significant effects on growth performance.

Regarding the apparent N digestibility observed in our studies (piglets and pig), HM diets achieved superior N digestibility as compared to the SM diets. This supports the conclusion that, in particular, the algae meal of *Spirulina platensis* is more poorly digestible than the insect larvae meal.

The level of AA supplementation in the experimental diets was not a factor of significant influence on the observed N digestibility. Nonetheless, Février and Sève [12] demonstrated that digestibility of feed mixtures was somewhat inferior when Spirulina meal was incorporated. Other reports from Martinavičius [45] with a low level of added SM (2 g/d) showed numerically higher daily gains as well as enhanced digestibility of fat, organic matter, and protein. The very low supplementation of Spirulina in this diet could explain the effects on protein digestibility. To our present knowledge, further relevant studies assessing the digestibility of micro algae meals in pig diets are not available. Other aspects influencing the digestibility of SM are discussed elsewhere [7–9]. As for the inclusion of insect meals, Newton et al. [14] studied the digestibility of piglet diets with *Hermetia illucens* when substituting 100% of the SBM by a dried larvae meal of *Hermetia illucens*. The reported apparent digestibility of dry matter, nitrogen, ether extract, crude fiber, ash, NFE, calcium, and phosphorus for the larvae meal based diet were 77.5, 76.0, 83.5, 53.8, 45.2, 84.7, 38.9, and 23.0, respectively. The corresponding data for the soybean meal-based diet were 85.3, 77.2, 73.0, 49.2, 61.6, 91.3, 39.3, and 51.3. The observed digestibility of dry matter, nitrogen, ash, and NFE was higher in the plant-based diet. Further aspects about the digestibility of HM are discussed elsewhere [7–9].

Looking more closely at the standardized NPU (NPU_{std}) as an N intake independent measure of the feed protein quality, during the piglet period a significantly higher protein quality was observed for the HM (AA) diet compared to diets HM (A) and SM (A). In growing pigs, diets SM²(AA) and HM (AA) created superior protein quality. However, the achieved dietary AA balance following extended the AA supplementation was an important factor of influence. Our results have clearly demonstrated that diets composed of the alternative proteins under study with an extended AA supplementation level yielded superior parameters of feed protein quality. This observation is also supported by current reports with chickens from Neumann et al. [6,7] and Velten et al. [9]. The actual AA supplementation aimed to meet the current ideal amino acid (IAAR) assumption [17]. In piglets, the extended AA supplementation with diet HM (AA) yielded a significantly higher protein quality, indicating that an enlarged range of AA supplementation (Lys, Met, Thr) is required. In contrast, diet SM (AA) with extended AA supplementation did not significantly achieve improved feed protein quality compared to diet SM (A). However, the dietary His supply remained 30% below the recommendation of NRC [18] and BSAS [19] and this fact meant that His was the limiting AA. In growing pigs, the extended AA supplementation with diet HM (AA) achieved only a numerical increase in feed protein quality. However, the additional supplementation of His in diet SM²(AA) yielded a significant improvement in feed protein quality, indicating that His was indeed the limiting AA in diet SM¹(AA). Accordingly, the elevated level of Lys in diet SM¹(AA) could not improve the dietary protein quality, but the supplementation of His in diet SM²(AA) provided significantly higher feed protein quality.

A large variation in the recommended optimal amount of His supply can be observed throughout the literature. The GfE [17] recommendations for piglets are substantially higher (+15%) in comparison to NRC [18] and BSAS [19]. Also, for growing pigs, higher in-feed concentrations (+17–26%) were recommended in the German requirement standards [17]. As a consequence, diet SM²(AA) containing 3.68 gHis/kg (Ratio Lys:His = 100:35) supplied 12% more His as recommended by NRC [18] and BSAS [19], but taking into account the German recommendation (Ratio Lys:His = 100:47) His could still be considered the limiting AA. As demonstrated both by the very high level of His efficiency ($\text{bc}^{-1}_{\text{His}}$) and insignificant difference between diets SM¹(AA) and SM²(AA), a further limitation of His in the His supplemented diet was plausible. This is the first validated measure of His efficiency under an approved His limitation in the diet according to the ‘Goettingen approach’. However, the His supplementation unexpectedly affected protein quality leading to significantly improved AA efficiency of each of the AAs under study. As a consequence, the Lys efficiency in diet SM²(AA) also exceeded the results of the other diets, but cannot be explained from a physiological point of view and we rank these results as preliminary. Therefore, the recommendation of NRC [18] and BSAS [19] for optimal His supply could be set too low. However, the limited number of repetitions with this diet is only indicating in this direction, but should not be taken as a validating conclusion, yet.

Continuing the discussion on the effect that diet has on AA efficiency, it has to be pointed out that effects only within the age periods and for relative AA supply below 100% are of interest. The methodical background is reported in more detail elsewhere [24,25]. Accordingly, only the most important observations will be discussed further. In piglet diets, the Lys efficiency differed only between the SM diets, indicating that the elevated Lys supply with diet SM (AA) impaired the Lys efficiency due to the remaining low level of His in both of these diets. Accordingly, the His efficiency was superior in SM diets. The high level of Met efficiency in diet HM (A) (exceeding the data of the other diets), clearly indicates Met as the limiting AA in diet HM (A). Otherwise, the lowest Leu supply created a significantly improved Leu efficiency with diet HM (AA). The observed Thr efficiency was not significantly different between diets and in agreement with the fact that this AA was not in a clear first limiting position in any of the diets under study.

In growing pigs, significantly superior data of AA efficiency were generally observed in diet SM²(AA), but this result should not be over-interpreted according to the former discussion related to His efficiency. Lys efficiency was only numerically different between the other diets, indicating that a limiting position of Lys was not verified. Accordingly, Met efficiency did not significantly differ between diets, with the exception of diet SM²(AA). In addition, diet HM (AA) produced superior efficiency of both Met and Thr, but the effect was not significant. In the case of Leu efficiency, the response with HM (AA) was more distinct but only significantly different to diet SM (A); although the same relative level of Leu was supplied in both of the HM diets. In summary, the high level of His efficiency as found with the His limiting SM diets in growing pigs is of further interest to generate the first AA efficiency data under conditions of a validated limiting position for His using the 'Goettingen approach'.

Finally, further investigations are required to optimize the dietary AA balance in pig diets with an elevated inclusion level of the alternative feed proteins under study. However, up to now it can be ascertained that both protein sources are useful from the viewpoint of dietary protein quality when an appropriate AA supplementation is applied. Actually, insect-based meals are still not authorized for pig feeds in the European Union [46]. Nonetheless, the EU legislative barriers are expected to be overcome in the near future according to the permission for aquafeed [47]. However, the profitability of the two alternative protein sources needs to be improved.

The general conclusion of this study is that partly defatted insect meal from *Hermetia illucens* (HM) larvae or the microalgae *Spirulina platensis* (SM) at inclusion rates of 21% (piglets) and 13% (pigs) are useful protein alternatives in diets for piglets and growing pigs. The high inclusion rate of SM and HM was applied to demonstrate their potential; however, limitations were uncovered when the dietary AA balance is not sufficiently supplemented. In this context, we aimed to quantify these responses on dietary protein quality by means of N balance studies.

5. Conclusions

High inclusion levels of partly defatted *Hermetia* meal or *Spirulina* meal in piglet and pig diets depressed dietary protein quality when amino acid supplementation was incomplete, as demonstrated with Lys at 80% of its recommendation. With an extended level of AA supplementation, the observed protein quality of diets with both alternative proteins was improved. Diets with *Hermetia* meal yielded significantly higher apparent N digestibility compared to diets with *Spirulina* meal. Nonetheless, both partly defatted *Hermetia illucens* and alga meal from *Spirulina platensis* are promising alternative protein sources in piglet and pig diets, so long as the dietary AA balance is well-adapted to the IAAR recommendations through an enlarged range of supplemented feed AAs. Further investigations are needed to exploit the complete potential of AA supplementations in diets with a high inclusion level of alternative protein sources so that AA efficiency data may provide additional information to optimize the dietary AA balance.

Author Contributions: F.L. conceived the original idea of the study and designed the experiments. C.N. and S.V. designed the piglet and pig diets and contributed their time and expertise in raising the piglets and pigs.

C.N. evaluated the data and prepared the manuscript. All authors contributed to the manuscript revisions and approved the final version.

Funding: This research was supported by the Ministry for Science and Culture (ZN 3041), Lower Saxony, Germany.

Acknowledgments: This study is dedicated in memoriam to Günter Gebhardt, who created the non-linear nitrogen utilization model by application of an exponential function and provided foundations for modelling applications within the ‘Goettingen approach’.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. FAO. Global agriculture towards 2050. In Proceedings of the How to Feed the World 2050, High Level Expert Forum, Rome, Italy, 12–13 October 2009.
2. FAO. Animal Production and Health Meat-Meat Consumption. Agriculture and Consumer Protection Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available online: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/background> (accessed on 4 July 2018).
3. DBV. Erzeugung und Märkte. In *Situationsbericht 2016/17*; Deutscher Bauernverband: Berlin, Germany, 2016; pp. 144–193.
4. Taelman, S.E.; De Meester, S.; Van Dijk, W.; Da Silva, V.; Dewulf, J. Environmental sustainability analysis of a protein-rich livestock feed ingredient in The Netherlands: Microalgae production versus soybean import. *Resour. Conserv. Recycl.* **2015**, *101*, 61–72. [[CrossRef](#)]
5. Veldkamp, T.; Bosch, G. Insects: A protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets. Available online: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/af/pdfs/5/2/45> (accessed on 5 June 2017).
6. Neumann, C.; Velten, S.; Liebert, F. Improving the dietary protein quality by amino acid fortification with a high inclusion level of micro algae (*Spirulina platensis*) or insect meal (*Hermetia illucens*) in meat type chicken diets. *OJAS* **2015**, *8*, 12–26. [[CrossRef](#)]
7. Neumann, C.; Velten, S.; Liebert, F. The graded inclusion of algae (*Spirulina platensis*) or insect (*Hermetia illucens*) meal as a soybean meal substitute in meat type chicken diets impacts on growth, nutrient deposition and dietary protein quality depending on the extent of amino acid supplementation. *OJAS* **2018**, *8*, 163–183. [[CrossRef](#)]
8. Velten, S.; Neumann, C.; Bleyer, M.; Gruber-Dujardin, E.; Hanuszewska, M.; Przybylska-Gornowicz, B.; Liebert, F. Effects of 50 percent substitution of soybean meal by alternative proteins from *Hermetia illucens* and *Spirulina platensis* in meat-type chicken diets with graded amino acid supply. *OJAS* **2018**, *8*, 119–136. [[CrossRef](#)]
9. Velten, S.; Neumann, C.; Schäfer, J.; Liebert, F. Effects of the partial replacement of soybean meal by insect or algae meal in chicken diets with graded amino acid supply on parameters of gut microbiology and dietary protein quality. *OJAS* **2018**, *8*, 259–279. [[CrossRef](#)]
10. Grinstead, G.S.; Tokach, M.D.; Dritz, S.S.; Goodband, R.D.; Nelssen, J.L. Effects of *Spirulina platensis* on growth performance of weanling pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2000**, *83*, 237–247. [[CrossRef](#)]
11. Nedeva, R.; Jordanova, G.; Kistanova, E.; Shumkov, K.; Georgiev, B.; Abadgieva, D.; Kacheva, D.; Shimkus, A.; Shimkine, A. Effect of the addition of *Spirulina platensis* on the productivity and some blood parameters on growing pigs. *Bulg. J. Agri. Sci.* **2014**, *20*, 680–684.
12. Février, C.; Sève, B. Essais d’incorporation de Spiruline (*Spirulina maxima*) dans le Aliments des Porcins. *Ann. Nutr. Aliment.* **1976**, *29*, 625–630.
13. Hugh, W.I.; Dominy, W.; Duerr, E. *Evaluation of Dehydrate Spirulina (Spirulina platensis) as a Protein Replacement in Swine Starter Diets*; University of Hawaii Research and Extension Series: Honolulu, HI, USA, 1985.
14. Newton, G.L.; Booram, C.V.; Barker, R.W.; Hale, O.M. Dried larvae meal as a supplement for swine. *J. Anim. Sci.* **1977**, *44*, 395–400. [[CrossRef](#)]
15. Dankwa, D.; Oddoye, E.O.K.; Mzamo, K.B. Preliminary studies on the complete replacement of fishmeal by house-fly-larvae-meal in weaner pig diets: Effects on growth rate, carcass characteristics, and some blood constituents. *GJAS* **2000**, *33*, 223–227. [[CrossRef](#)]
16. Ji, Y.J.; Liu, H.N.; Kong, X.F.; Blachier, F.; Geng, M.M.; Liu, Y.Y.; Yin, Y.C. Use of insect powder as a source of dietary protein in early-weaned piglets. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94*, 111–116. [[CrossRef](#)]

17. Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE). *Recommendations for the Supply of Energy and Nutrients to Pigs*; DLG-Verlag: Frankfurt am Main, Germany, 2008; Chapter 10, p. 48, ISBN 978-3-7690-0707-7.
18. National Research Council (NRC); Division on Earth and Life Studies; Board on Agriculture and Natural Resources; Committee on Nutrient Requirements of Swine. *Nutrient Requirements of Swine*; The National Academies Press: Washington, DC, USA, 2012.
19. British Society of Animal Science (BSAS). *Nutrient Requirements Standards for Pigs*; Whittemore, C.T., Hazzledine, M.J., Close, W.H., Eds.; BSAS: Penicuik, UK, 2003.
20. Naumann, C.; Bassler, R. *Die chemische Untersuchung von Futtermitteln*; VDLUFA-Verlag: Darmstadt, Germany, 1976–2004.
21. Samadi; Liebert, F. Lysine requirement of fast growing chickens—Effects of age, sex, level of protein deposition and dietary lysine efficiency. *J. Poult. Sci.* **2007**, *44*, 63–72. [[CrossRef](#)]
22. Samadi; Liebert, F. Threonine requirement of slow-growing male chickens depends on age and dietary efficiency of threonine utilization. *Poult. Sci.* **2007**, *86*, 1140–1148. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Liebert, F. Modelling of protein metabolism yields amino acid requirements dependent on dietary amino acid efficiency, growth response, genotype and age of growing chicken. *Avian Biol. Res.* **2008**, *1*, 101–110. [[CrossRef](#)]
24. Liebert, F. Basics and applications of an exponential nitrogen utilization model (“Goettingen approach”) for assessing amino acid requirements in growing pigs and meat type chickens based on dietary amino acid efficiency. In *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry*; Sakomura, N.K., Gous, R., Kyriazakis, I., Hauschild, L., Eds.; CABI Publishing: Wallingford, Oxfordshire, UK, 2015; pp. 73–87.
25. Liebert, F. Further progress is needed in procedures for the biological evaluation of dietary protein quality in pig and poultry feeds. *Arch. Anim. Breed.* **2017**, *60*, 259–270. [[CrossRef](#)]
26. Samadi; Wecke, C.; Pastor, A.; Liebert, F. Assessing lysine requirement of growing chicken by direct comparison between supplementation technique and “Goettingen approach”. *OJAS* **2017**, *7*, 56–69. [[CrossRef](#)]
27. Gebhardt, G. Die Bewertung der Eiweißqualität von Nahrungs- und Futtermitteln mit Hilfe des N-Bilanzversuches. In *Vergleichende Ernährungslehre des Menschen und seiner Haustiere*; Hock, A., Ed.; Gustav Fischer Verlag: Jena, Germany, 1966; pp. 323–348.
28. Wecke, C.; Liebert, F. Lysine requirement studies in modern genotype barrows dependent on age, protein deposition and dietary lysine efficiency. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **2009**, *93*, 295–304. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Wecke, C.; Liebert, F. Optimal dietary lysine to threonine ratio in pigs (30–110 kg BW) derived from observed dietary amino acid efficiency. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **2010**, *94*, 277–285. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Khan, D.R.; Wecke, C.; Liebert, F. Does the naked neck meat type chicken yield lower methionine requirement data? *Animals* **2015**, *5*, 151–160. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Khan, D.R.; Wecke, C.; Sharifi, A.R.; Liebert, F. Evaluating the age dependent potential for protein deposition in naked neck meat type chicken. *Animals* **2015**, *5*, 56–70. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Pastor, A.; Wecke, C.; Liebert, F. Assessing the age-dependent optimal dietary branched-chain amino acid ratio in growing chicken by application of a nonlinear modeling procedure. *Poult. Sci.* **2013**, *92*, 3184–3195. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. De Paula Dorigam, J.C.; Sakomura, N.K.; Soares, L.; Fernandes, J.B.K.; Suender, A.; Liebert, F. Modelling of lysine requirement in broiler breeder hens based on daily nitrogen retention and efficiency of dietary lysine utilization. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2017**, *226*, 29–38. [[CrossRef](#)]
34. Wecke, C.; Liebert, F. Improving the reliability of optimal in-feed amino acid ratios based on individual amino acid efficiency data from N balance studies in growing chicken. *Animals* **2013**, *3*, 558–573. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Wecke, C.; Pastor, A.; Liebert, F. Validation of the lysine requirement as reference amino acid for ideal in-feed amino acid ratios in modern fast growing meat-type chickens. *OJAS* **2016**, *6*, 185–194. [[CrossRef](#)]
36. Liebert, F.; Gebhardt, G. Untersuchungen zum N-Umsatz wachsender Broiler in Abhängigkeit von differenzierten Zulagen an DL-Methionin und Tanninsäure zu unterschiedlichen Ackerbohnsensorten. *Arch. Anim. Nutr.* **1980**, *30*, 363–371. [[CrossRef](#)]
37. Liebert, F.; Gebhardt, G. Ergebnisse zur Wirksamkeit und zum Bedarf an ausgewählten Aminosäuren beim wachsenden weiblichen Schwein. 1. Mitteilung: Lysin. *Arch. Anim. Nutr.* **1986**, *36*, 1077–1086.

38. Thong, H.T.; Liebert, F. Potential for protein deposition and threonine requirement of modern genotype barrows fed graded levels of protein with threonine as limiting amino acid. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **2004**, *88*, 196–203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Samadi; Liebert, F. Estimation of nitrogen maintenance requirements and potential for nitrogen deposition in fast-growing chickens depending on age and sex. *Poult. Sci.* **2006**, *85*, 1421–1429. [[CrossRef](#)]
40. Samadi; Liebert, F. Modeling threonine requirement depending on age, protein deposition, dietary threonine efficiency and sex of fast growing chickens. *Poult. Sci.* **2006**, *85*, 1961–1968. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Block, R.J.; Mitchell, H. The correlation of amino acid composition of proteins with their nutritive value. *Nutr. Abstr. Rev.* **1946**, *16*, 249–278.
42. Dixon, W.J.; Massey, F.J., Jr. *Introduction to Statistical Analysis*; McGraw-Hill: New York, NY, USA, 1969.
43. Yap, T.N.; Wu, J.F.; Pond, W.G.; Krook, L. Feasibility of feeding *Spirulina maxima*, *Arthrospira platensis* or *Chlorella* sp. to pigs weaned to a dry diet at 4 to 8 days of age. *Nutr. Rep. Int.* **1982**, *25*, 543–552.
44. Jin, X.H.; Heo, P.S.; Hong, J.S.; Kim, N.J.; Kim, Y.Y. Supplementation of dried mealworm (*Tenebrio molitor* larva) on growth performance, nutrient digestibility and blood profiles in weaning pigs. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* **2016**, *29*, 979–986. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Martinavičius, V. Influence of blue-green algae on pigs physiological processes and productivity. In *Summary of Doctoral Dissertation Biomedical Sciences, Zootechny*; Lithuanian Veterinary Academy: Kaunas, Lithuania, 2008.
46. Vantomme, P. Way forward to bring insects in the human food chain. *J. Insects Food Feed* **2015**, *1*, 121–129. [[CrossRef](#)]
47. Commission Regulation (EU) 2017/893 (2017) Official Journal of the European Union of 24 May 2017 Amending Annex I and IV to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council and Annexes X, XIV and XV to Commission Regulation (EU) No 142/2011 as Regards the Provisions on Processed Animal Protein. Available online: [http://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2320148](http://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2320148) (accessed on 25 September 2018).



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

14 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Frank Liebert, der mir dieses Thema zur Bearbeitung im Rahmen des interdisziplinären Projektes „Sustainability Transitions“ überließ. Er betreute meine Promotion und stand mir mit besten Ratschlägen und Anregungen äußerst hilfsbereit zur Seite.

Ebenfalls zu danken habe ich

- dem Ministerium für Wissenschaft und Kultur (MWK) für die finanzielle Förderung aus Mitteln des Niedersächsischen Vorab,
- Frau Prof. Dr. Elke Pawelzik und Herrn Prof. Dr. Ludwig Theuvsen für ihre gutachterliche Tätigkeit,
- Frau Dr. Sünder und Herrn Dr. Wecke sowie Carsten für die geduldigen Ausführungen so mancher komplexen Fragestellungen,
- allen Mitarbeitern der Tierernährungsphysiologie (Wissenschaftler, Sekretärinnen, Laborantinnen und Tierpfleger); ohne sie wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen,
- den studentischen Hilfskräften Anna, Anne-Cathrin, Deike, Juliana, Alexander, Lukas und Johannes für die Arbeiten in der Versuchseinrichtung und Labor sowie mancher experimentellen Auswertungen der Versuchsergebnisse,
- Frau Anita Gunzert für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts. Sie hat mir schon die Bachelor- und Masterarbeit Korrektur gelesen,
- Brianne für die kompetente Englisch-Überarbeitung der Publikationen.

Des Weiteren ein herzliches Dankeschön an

- Anne und Susanne für die wertvolle und freundschaftliche Zusammenarbeit und Freizeitgestaltung während unserer gemeinsamen Promotionszeit in Göttingen,
- Caro und Luisa für die gemeinsamen Unternehmungen in Göttingen,
- Christian für die lustigen gemeinsamen Tanzabende,
- meine Eltern und meinen Bruder. Sie haben mich immer in meinem Willen unterstützt.

Schließlich danke ich all meinen Freundinnen und Freunden aus den verschiedenen Ausbildungsabschnitten in Deutschland und Österreich, die mich während der Zeit in Göttingen besuchten, für ihre Offenheit und Unterstützung vor allem bei den Umzügen.