

# **Einfluss von Insektenmehl (*Hermetia illucens*) und Mikroalgenmehl (*Spirulina platensis*) als alternative Proteinquellen auf Wachstumsparameter und Schleimhautmorphologie des Dünndarms für beim Absatzferkel**

**S. Velten, C. Neumann, J. Mast, E. Gruber-Dujardin\*, F. Liebert**

Lehrstuhl für Tierernährungslehre, Georg-August-Universität Göttingen

\*Deutsches Primatenzentrum GmbH, Infektionspathologie, Göttingen



[http://www.duden.de/\\_media\\_/full/F/ferkel-201020109199.jpg](http://www.duden.de/_media_/full/F/ferkel-201020109199.jpg)



<http://www.ap-pi.com/about/appi,27.html>



<https://revelice.com/en/body-care/934-microalga-cosmetics-vital-limph-of-spirulina-platensis.html>

14. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, 21.11.2017, Wittenberg

## Ziel der Studie:

Wachstumsversuch bei Absatzferkeln

- zur Bewertung der **zotechnischen Leistungsparameter** und
- der **Schleimhautmorphologie** des Dünndarms
- basierend auf **50%igem** Austausch von Sojaextraktions-schrot (SES)

- durch teilentfettetes ***Hermetia illucens*** Mehl (HM)



- oder Mehl der blau-grünen Mikroalge ***Spirulina platensis*** (SM)



## Schwarze Soldatenfliegenlarve → *Hermetia illucens*

- Futter der Larven:  
Gemisch aus Roggenmehl & Weizenkleie
- Absammeln nach 20 Tagen Mast
- 14 Std. Trocknen bei ca. 65°C
- Teilentfetten durch Schneckenpresse
- Vermahlen als Mehl



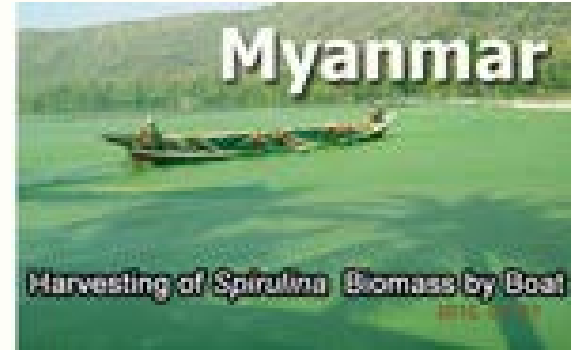
Eigene Darstellung in Anlehnung an Caruso et al. (2013)

- **Fertige Proteinquelle (50-60% XP/TS)**

## Mikroalge → *Spirulina platensis*

- Geschöpft aus dem Wasser
- Sonnengetrocknet
- Frei von:
  - GMO
  - Konservierungsmitteln
  - Pestiziden
  - Bestrahlung
  - Färbemitteln
  - Zusatzstoffen

### ➤ **Proteinquelle** (~60% XP/TS)



Quelle: <http://m.blog.daum.net/yangkees52/17198547>



- a) Abfischen der Spirulina von der Oberfläche des Twin Taung in Myanmar;
- b) Spirulina-Platten, die in der Sonne auf Plastikfolien getrocknet werden (Sili et al., 2012)






## Wachstumsversuch (direkt nach dem Absetzen):

- 40 Borgferkel [PIC 408 x (Large White x Landrace)],  
Haltung in Einzelflatdecks
  - 14 Tage Eingewöhnungszeit
  - 21 Tage Versuchsphase
- Futterversorgung:  
3x tägl. in Mehlform  
semi ad libitum
- Wasserversorgung:  
ad libitum



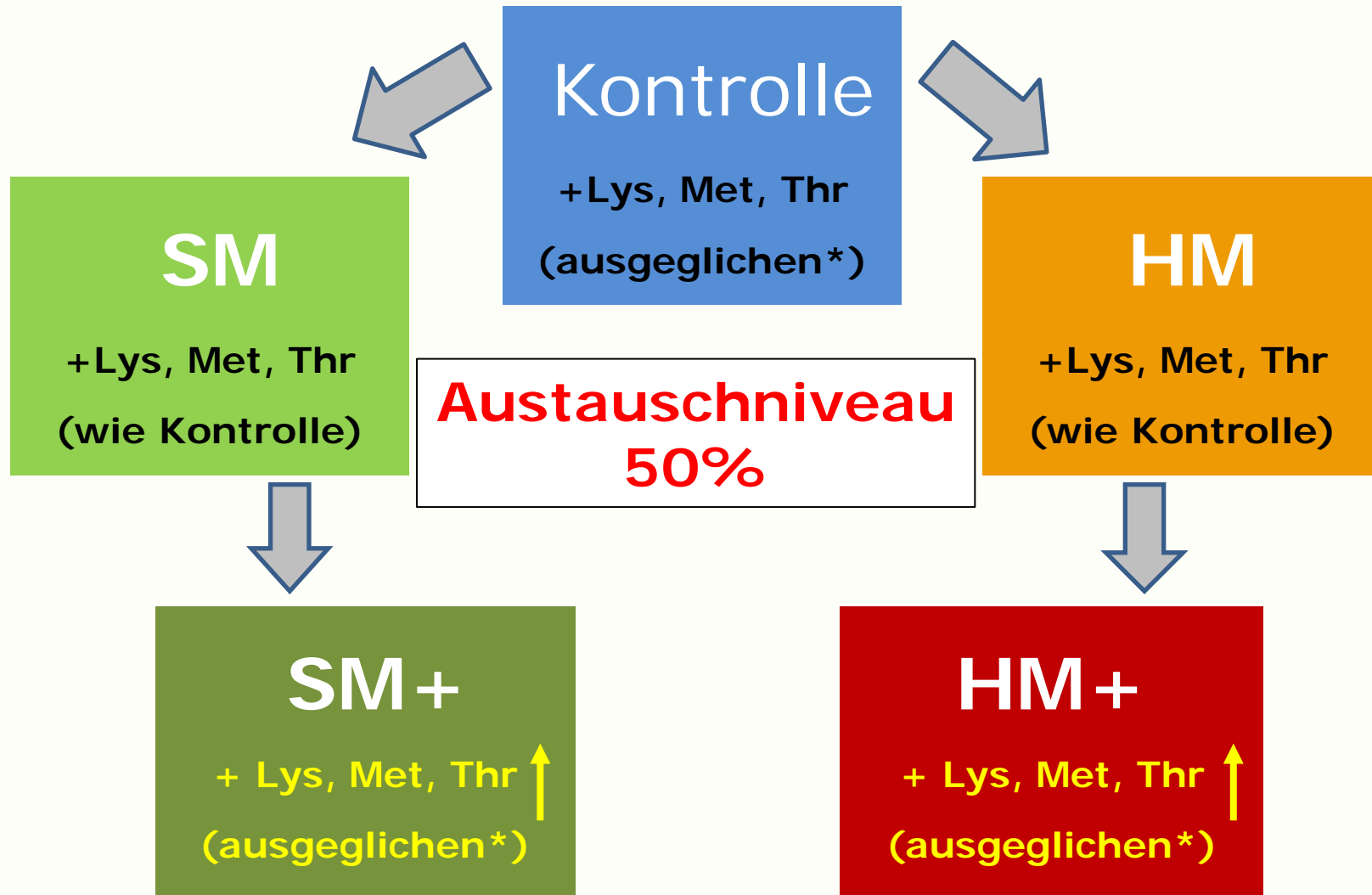
Quelle: Eigenes Bildmaterial

## Analyisierte Nährstoffe der getesteten Proteinquellen:

	<b>% TS</b>	<b>XP (%TS)</b>	<b>XL (%TS)</b>
<b>Sojaextraktionsschrot (SES)</b> 	<b>89,5</b>	<b>48,1</b>	<b>2,1</b>
<b>teilentfettetes Hermetiamehl (HM)</b> 	<b>94,5</b>	<b>60,8</b>	<b>14,1</b>
<b>Spirulinamehl (SM)</b> 	<b>96,6</b>	<b>58,8</b>	<b>4,3</b>

Quellen: Bild 1 und 3: eigenes Material, Bild 2: [http://www.krautrausch.de/media/image/thumbail/spirulina-pulver-gemahlen\\_720x600.jpg](http://www.krautrausch.de/media/image/thumbail/spirulina-pulver-gemahlen_720x600.jpg)

## Diätkonzept:



\* AS Supplementation entsprechend der empfohlenen AS-Verhältnisse der GfE (2006)

## Zusammensetzung des Ferkelfutters

Rohstoff g/kg	Kontrolle	HM	SM	HM +	SM +
Weizen	325,5	331,8	346,8	331	346,5
Gerste	325,5	331,8	346,8	331	346,5
SES	280	140	140	140	140
Hermetiamehl	-	104,4	-	104,4	-
Spirulinamehl	-	-	84,9	-	84,9
L-Lys·HCl	4,4	4,4	4,4	6,2	7
DL-Met	0,5	0,5	0,5	1,4	0,9
L-Thr	1,1	1,1	0,6	2	1,3
XP %	19,1	19,2	18,4	19,5	18,7
ME (MJ/kg)	13,4	14,4	14,2	14,3	14,2

<sup>1</sup> Mengen- und Spurenelemente, Vitamine, Markersubstanz (TiO<sub>2</sub>)



## Laboranalysen

nach den standardisierten Vorschriften des VDLUFA

## Zootecnische Parameter

- **Lebendmasseentwicklung (g/d)**  
[ $LMZ = (LM_{Ende} - LM_{Anfang}) / Versuchstage$ ]
- **Futtermverzehr (gTS/d)**  
[ $FI = Futteraufnahme / Versuchstage$ ]
- **Futtermverwand (g/g)**  
[ $FA = Futteraufnahme / LMZ$ ]
- **Proteinaufwand (g/g)**  
[ $= (FI \cdot XP \text{ Gehalt im Futter}) / LMZ$ ]



Quelle: Eigenes Bildmaterial

## Biostatistik

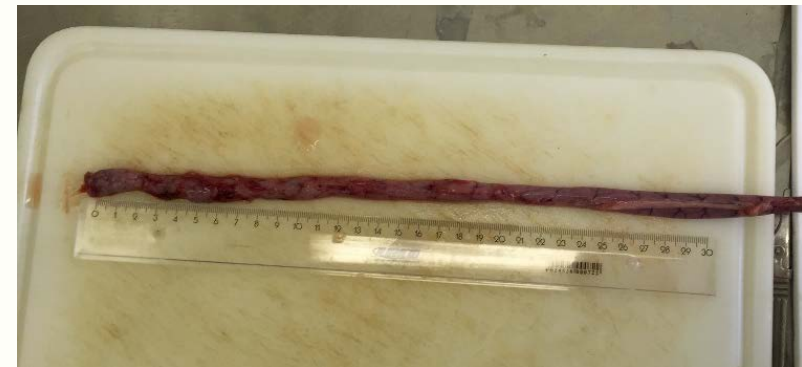
- Einfaktorielle ANOVA, Tukey und Games-Howell Test ( $p < 0,05$ )

## Dünndarmuntersuchung:

- Jeweils 4 Tiere aus **HM**, **SM** und **Kontrollgruppe**
- Erfassung Frischmasse und Vermessung folgender Darmabschnitte:
  - **Duodenum**
  - **Jejunum**
  - **Ileum**
- **Systematisch, zufällig, einheitlich ausgewählte** Gewebeproben zur Bestimmung der **primären Schleimhautoberfläche (Spm)**
- Auswertung mit Software GraphPad PRISM Version 6.05
- Signifikanzprüfung mittels ANOVA, Kruskal-Wallis-Test



Quelle: Eigenes Bildmaterial



Quelle: Eigenes Bildmaterial

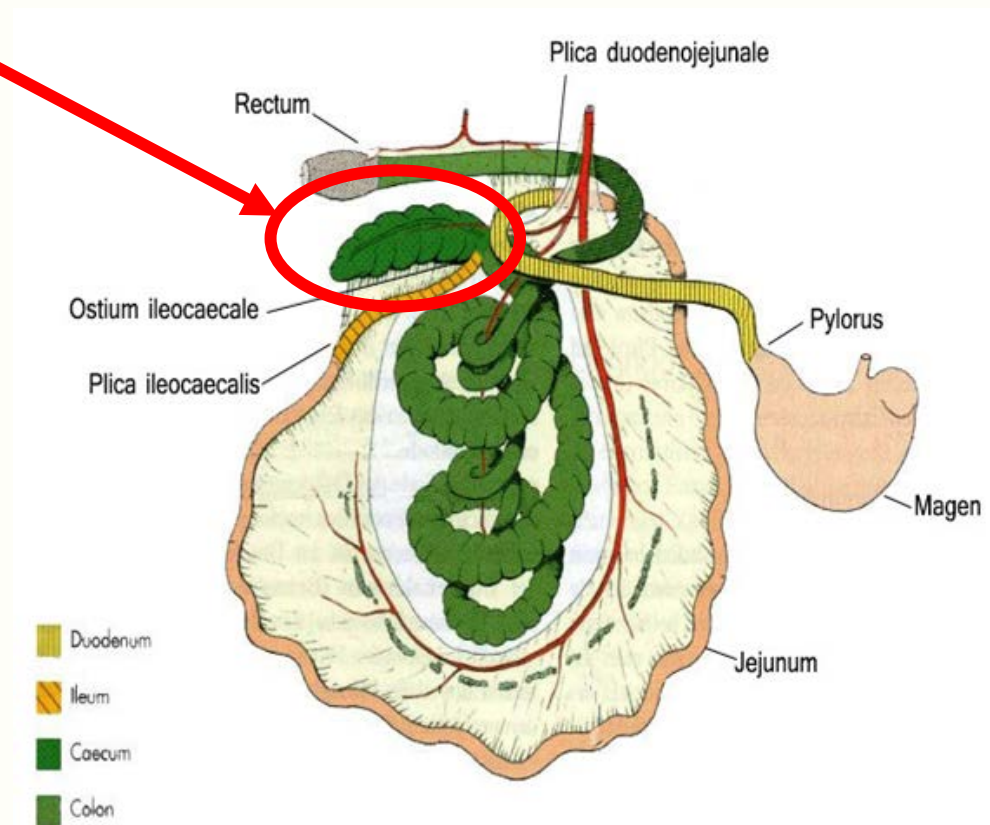
## Mikrobiologische Untersuchungen:

- **Proben** vom **Chymus** aus den Blinddärmen
- **Futter** und **Chymusproben** wurden auf **Parasiten** und folgende **Mikroben** untersucht:

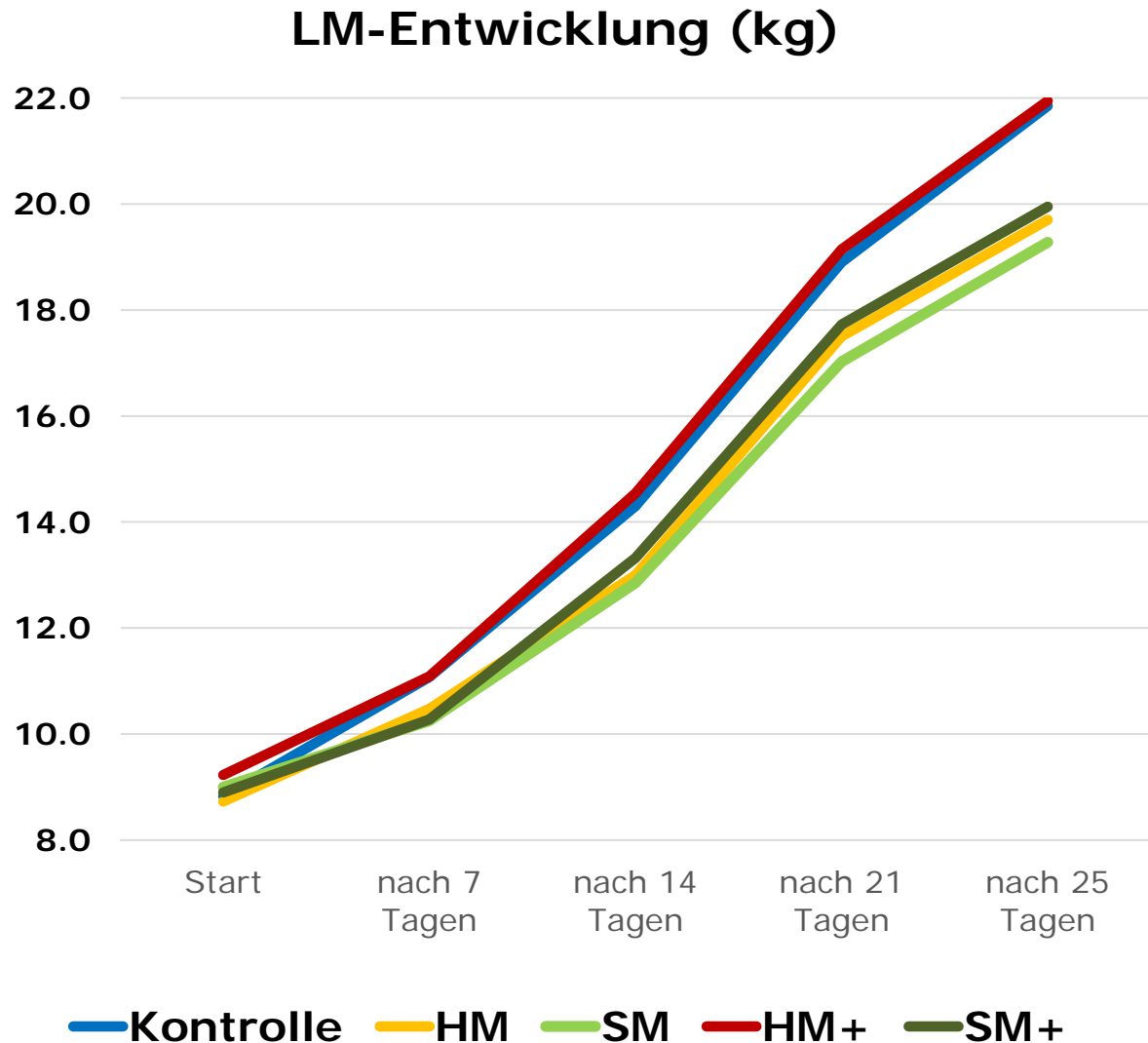
- Gesamtkeimzahl
- Enterobakterien
- Coliforme Bakterien
- Enterokokken
- Milchsäurebakterien

+ gezielte Untersuchung auf:

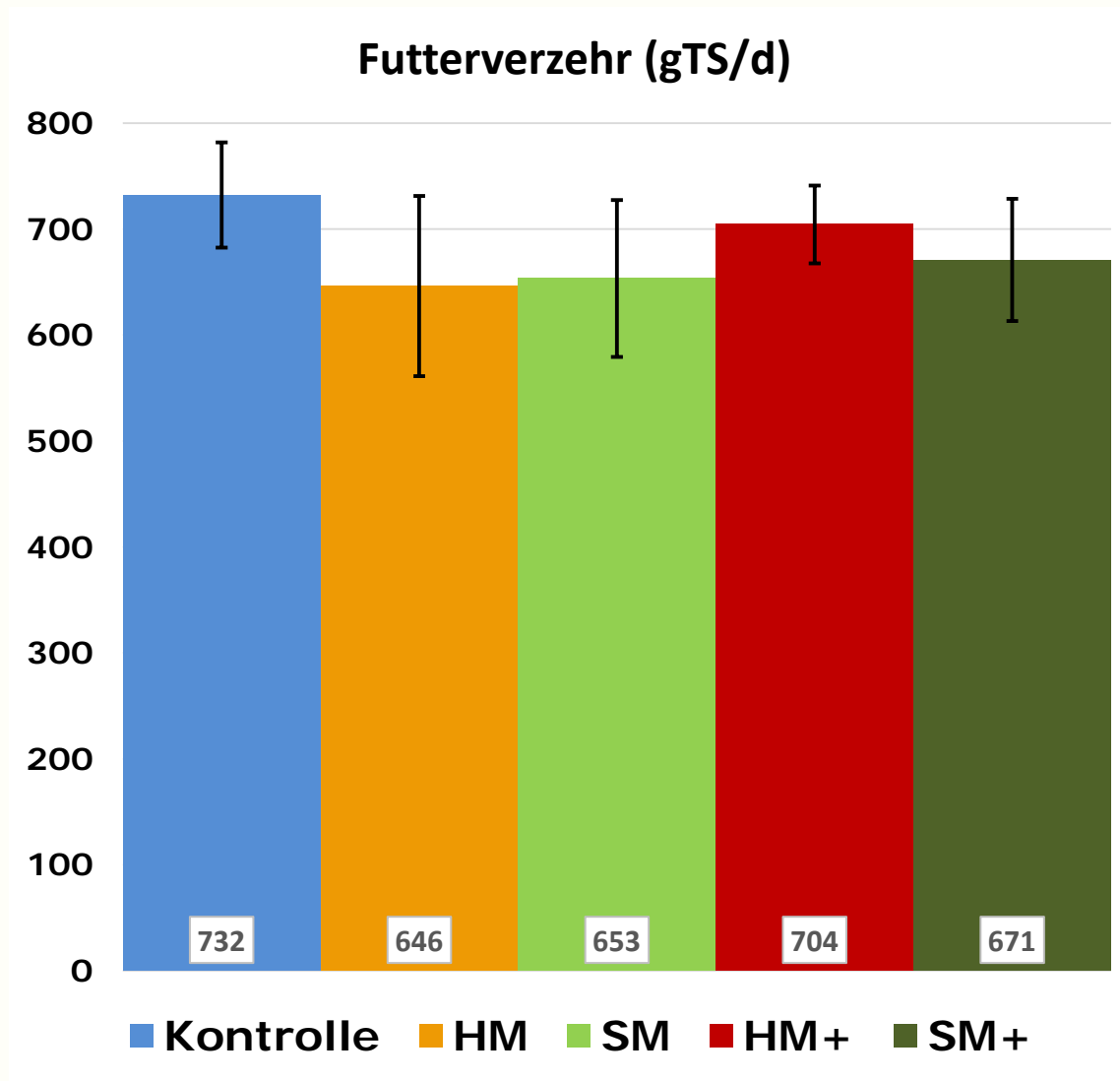
- *Salmonella*
- *E.coli*
- *Campylobacter spp.*
- *Clostridium spp.*



## Zootecnische Parameter Gesamtversuch:

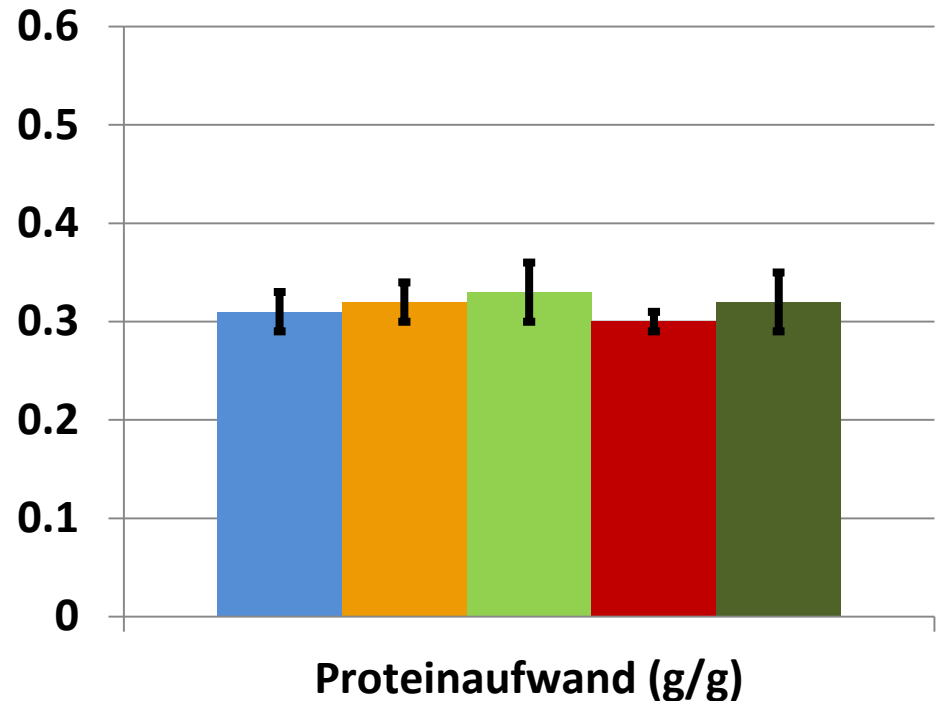
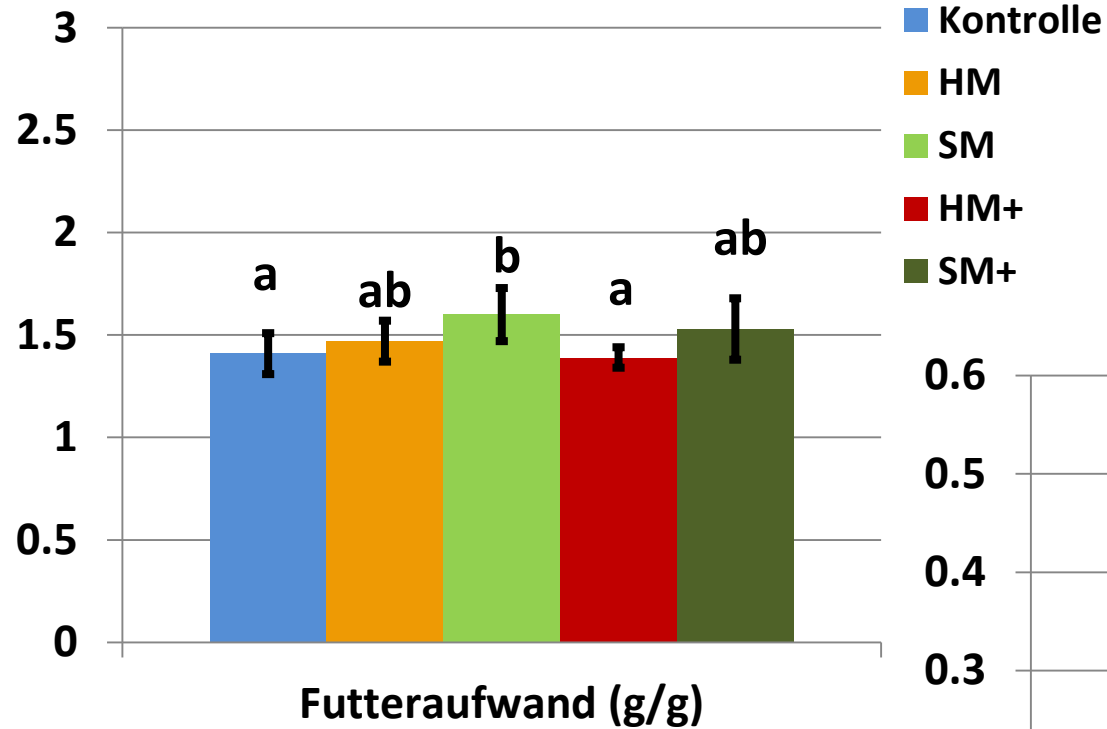


## Zootecnische Parameter Gesamtversuch:

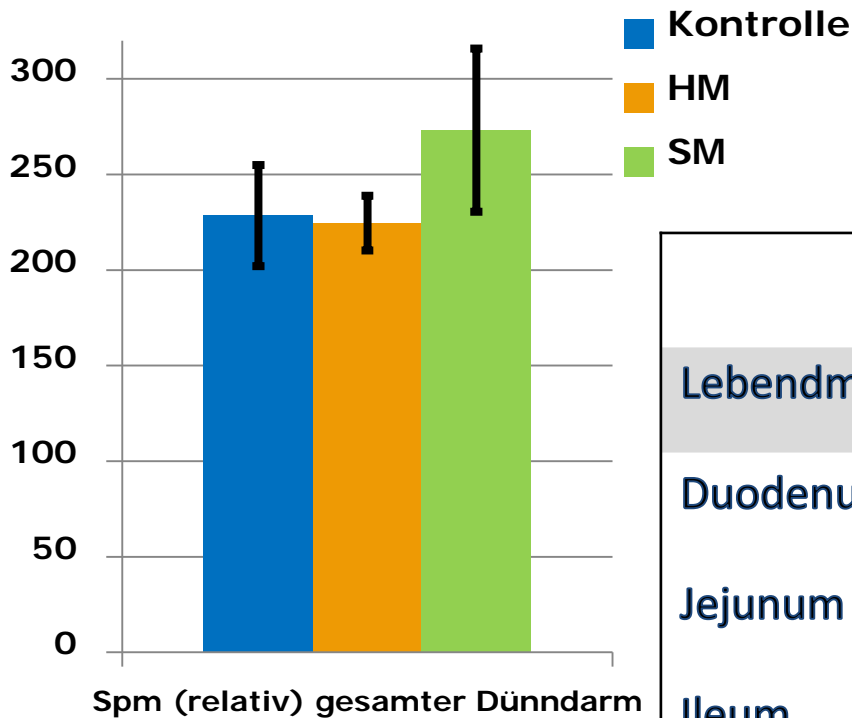




## Aufwandsparameter Gesamtversuch:



## Relative primäre Schleimhautoberfläche (cm<sup>2</sup>/kg LM):



	Kontrolle	HM	SM
Lebendmasse	24,8 ± 2,2	20,7 ± 2,4	21,6 ± 2,1
Duodenum	7,1 ± 0,4	5,2 ± 1,7	8,7 ± 2,7
Jejunum	218,2 ± 25,8	215,7 ± 15,4	261,0 ± 39,7
Ileum	3,2 ± 1,1	3,6 ± 0,9	3,5 ± 0,6

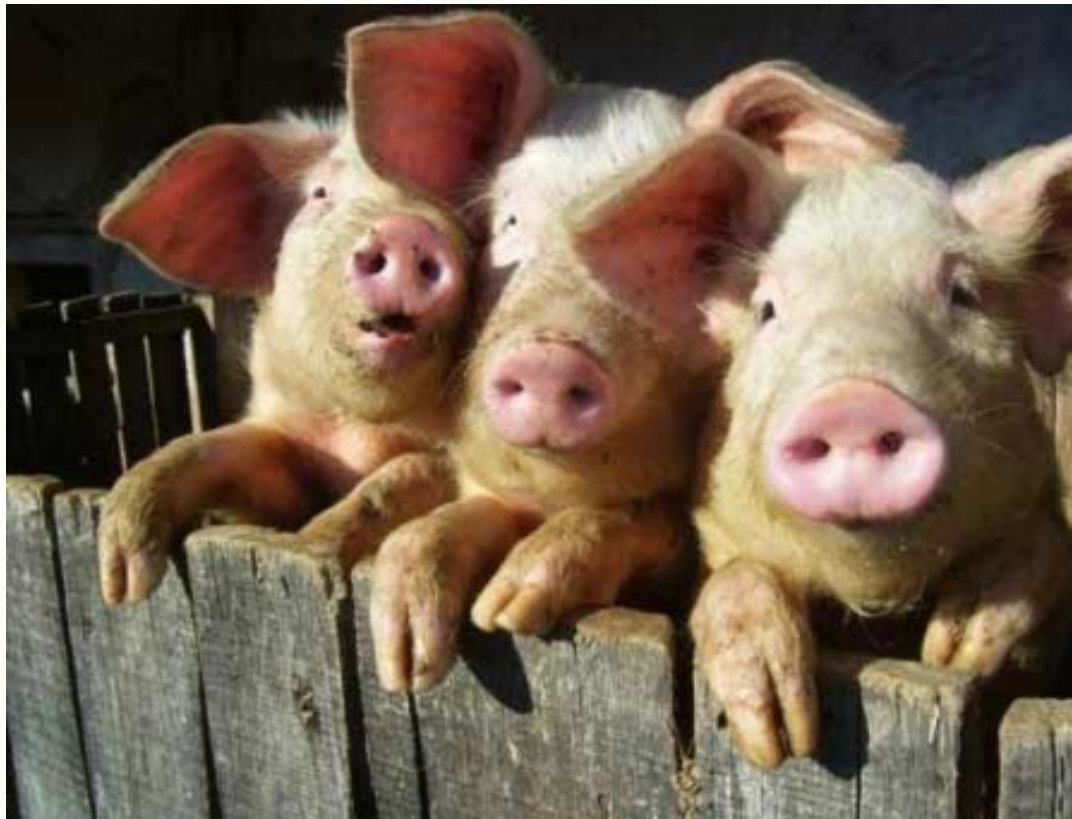
## Mikrobiologische Untersuchungen:

- Keine relevanten Hinweise auf mögliche diätabhängige Veränderungen zwischen den Gruppen

## Fazit:

- Mehle von *Spirulina platensis* und *Hermetia illucens* können SES in den Futtermischungen von Ferkeln zu **50%** ersetzen, **bedarfsangepasste Aminosäureenergänzung** vorausgesetzt. Bei Einsatz des Algenmehls (SM) war der Ergänzungseffekt aber tendenziell geringer ausgeprägt.
- Tendenz zu **erhöhtem Futteraufwand** und **Vergrößerung der relativen primären Schleimhautoberfläche** in **Gruppe SM**
  - möglicherweise proteinträgerspezifische Auswirkungen auf Mikrostruktur des Dünndarms durch *Spirulina platensis*
  - Weitere Untersuchungen sind zur Klärung notwendig
- Beide alternativen **Proteinquellen** hatten **keine negativen Auswirkungen** auf den Hygienestatus sowie **Mikroben** und **Parasiten** im Futter und Chymus

# Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!



Quelle: <http://www.kleinpause.net/kleine-bilder-galerie-lustige-schweine-bilder>

## Anhang 1

### Analysierte Aminosäurezusammensetzung der Proteinquellen:

g AS/16g N	Spirulinamehl	Sojaextraktions- schrot	Hermetiamehl
Lys	<b>3,84</b>	6,07	<b>4,81</b>
Met	1,79	1,28	1,27
Cys	<b>0,75</b>	1,46	<b>0,74</b>
Thr	4,40	3,78	3,66
Val	5,57	4,37	5,12
Ile	4,93	4,34	<b>3,68</b>
Leu	7,75	7,32	<b>5,72</b>
Phe	<b>3,87</b>	4,88	<b>2,87</b>
Tyr	3,82	3,71	5,55
His	<b>1,26</b>	2,53	2,63
Arg	6,63	7,19	<b>4,05</b>



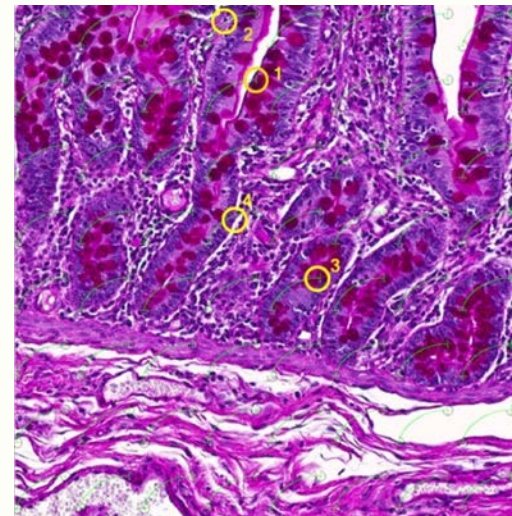
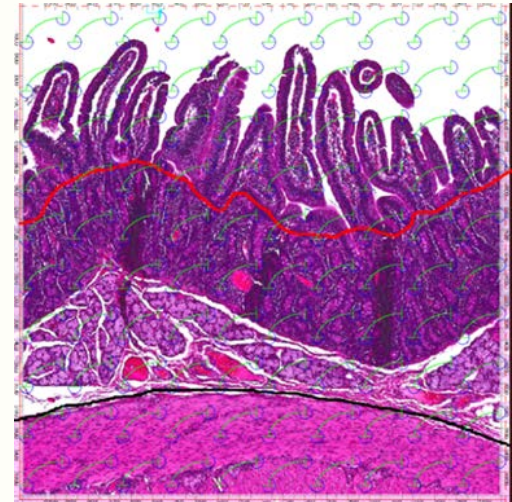
# Weitere Untersuchungen Dünndarmmorphologie

Ermittlung von **Zottenoberfläche (Sv)** und **Muzinvolumen pro Basalmembranoberfläche (Vmuc/Sbm)**

- mittels stereologischer Untersuchungen
  - Grundsatz: **durchgehend zufällige systematische Stichprobenentnahme**
  
- Gewebeprobenentnahme aus Dünndarm
  
- Herstellung 3-4  $\mu\text{m}$  dünnen Gewebeschnitten aus den Proben
  - Aufbringen auf Objektträger
  - 2 Serienschnitte pro Probe
    - Jeder 1. Schnitt HE-Färbung (für Zottenoberfläche)
    - Jeder 2. Schnitt PAS-Reaktion (für Muzinvolumen)
  - Einscannen bei 20-facher Vergrößerung

## Stereologische Auswertung

- Sichtfeldauswahl mit Software Image Scope
- Bildbearbeitung mit Software GIMP
- Auswertung mit Software STEPanizer© anhand von Schnittpunkten und Pointcounts von Zielstrukturen
- Testsystem Cycloids
- Stereologische Auswertung Zottenoberfläche
  - Auszählung Schnittpunkte mit Zottenoberfläche  $I(v)$ , sekundärer  $I(sm)$  und primärer Schleimhautoberfläche  $I(pm)$ 
    - Schleimhautvergrößerungsfaktor =  $\Sigma I(sm) / \Sigma I(pm)$
    - Zottenvergrößerungsfaktor =  $\Sigma I(v) / \Sigma I(sm)$
    - Zottenoberfläche =  $Spm * SHVF * ZVF$
- Stereologische Auswertung Muzinvolumen
  - Auszählung Pointcount Becherzelle in Zotte  $P(gcv)$  1
  - Auszählung Schnittpunkt Basalmembran in Zotte  $I(bmv)$  2
  - Auszählung Pointcount Becherzelle Krypte  $P(gcc)$  3
  - Auszählung Schnittpunkt Basalmembran Krypte  $I(bmc)$  4
    - $Vmuc / Spm = \frac{\Sigma P(muc) * l(p)}{2 * \Sigma I(bm)}$



## Zottenoberfläche gesamt

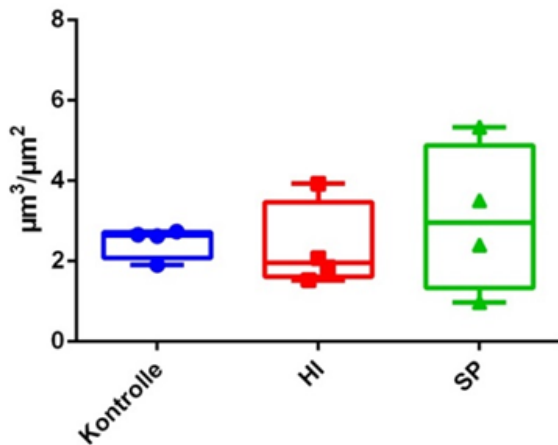
Lebendmasse sowie primäre Schleimhautoberfläche und Zottenoberfläche des gesamten Dünndarms bei Aufzuchtferkeln nach einem Fütterungsversuch mit verschiedenen Proteinquellen (MW  $\pm$  SD)

	<b>Kontrolle</b>	<b>[HI]</b>	<b>[SP]</b>
	<b>n = 4</b>	<b>n = 4</b>	<b>n = 4</b>
Lebendmasse (kg)	24,8 $\pm$ 2,2	20,7 $\pm$ 2,4	21,6 $\pm$ 2,1
Relative primäre Schleimhautoberfläche (cm <sup>2</sup> /kg LM)	228,5 $\pm$ 26,4	224,5 $\pm$ 14,3	273,1 $\pm$ 42,7
<b>Relative Zottenoberfläche (cm<sup>2</sup>/kg LM)</b>	<b>1680,8</b> <b><math>\pm</math> 221,9</b>	<b>1774,9</b> <b><math>\pm</math> 285,1</b>	<b>1889,4</b> <b><math>\pm</math> 194,9</b>

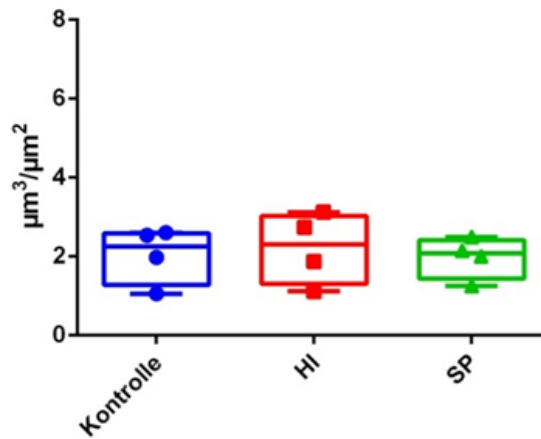
- [SP]-Gruppe hat tendenziell größte primäre Schleimhaut- und Zottenoberfläche (auch in Duodenum und Jejunum)
- Keine Signifikanzen bei Zottenoberfläche, Spm, ZVF und SHVF insgesamt und in den einzelnen Darmabschnitten
- Sehr heterogene Ergebnisse in einzelnen Darmabschnitten v.a. beim ZVF

## Muzinvolumen Zotten

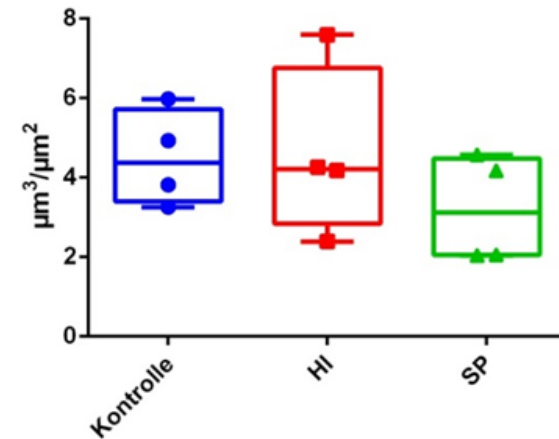
Duodenum Zotten  
Vmuc/Sbm



Jejunum Zotten  
Vmuc/Sbm

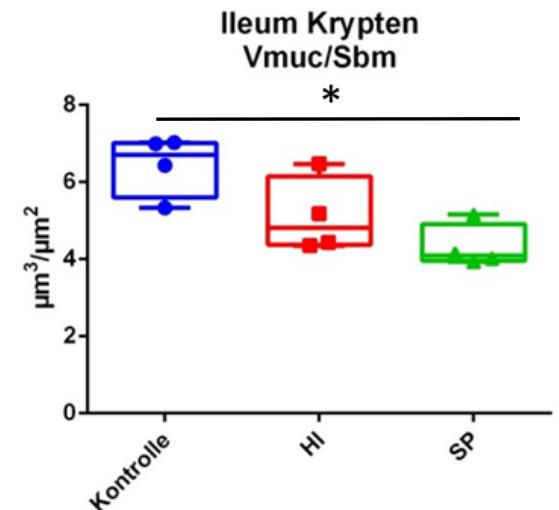
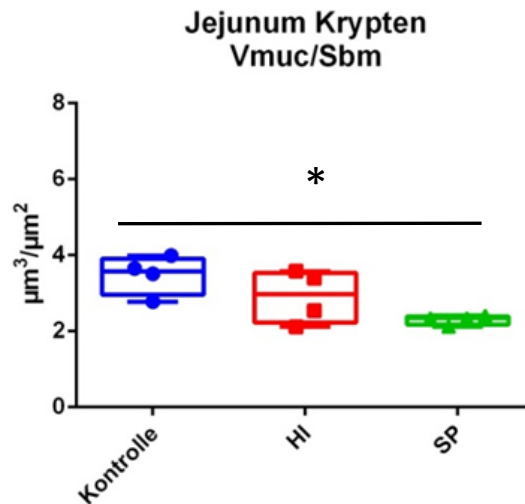
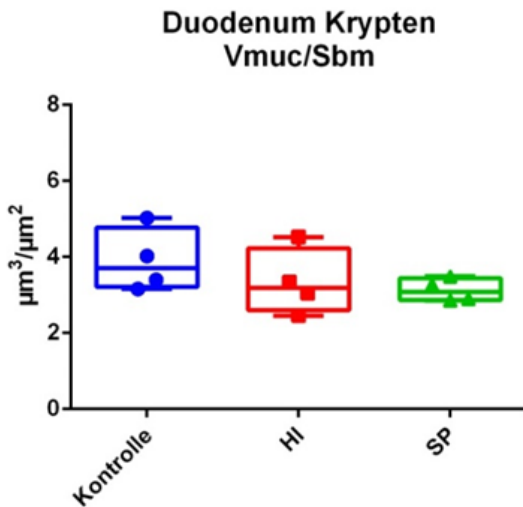


Ileum Zotten  
Vmuc/Sbm



→ Keine signifikanten Unterschiede im Zottenepithel  
→ Kontrollgruppe lag in allen Darmabschnitten zwischen den beiden anderen Gruppen

## Muzinvolumen Krypten



\* Signifikanz ( $p \leq 0,05$ )

- In Kryptenepithel eindeutiger Trend in allen Darmabschnitten
- Durchgehend verminderte sekretorische Aktivität bei alternativen Proteinquellen im Gegensatz zu Kontrollgruppe
- Signifikant niedrigeres Muzinvolumen bei SM im Vergleich zur Kontrollgruppe in Jejunum und Ileum



## Diskussion Muzinvolumen

- Signifikant geringere Muzinproduktion bei [SP] → Indikator für höhere Darmgesundheit
  - Muzin bei SAS könnte durch antirutitive Inhaltsstoffe ausgelöst werden. Bsp.:
    - Proteaseinhibitoren, Lektine
  - SP scheint fördernde Inhaltsstoffe zu besitzen. Bsp.:
    - Calcium-Spirulan (antiviral)
    - Phycocyanin (entzündungshemmend)
    - Arachidonsäure (schnellere Regeneration von Darmläsionen)
  - Auch HI scheint positive Einflüsse auf Darmgesundheit zu besitzen. Bsp.:
    - Laurinsäure (antibakteriell)
    - Chitin (entzündungshemmend, immunstimulierend)
- Schlechtere Verdaulichkeit könnte Verschiebung der Differenzierung von Vorläuferzellen auslösen → von Becherzellen zu Enterozyten

## Anhang 8

### Zusammensetzung des Ferkelfutters

Rohstoff g/kg	Kontrolle	HM	SM	HM +	SM +
Weizen	325,5	331,8	346,8	331	346,5
Gerste	325,5	331,8	346,8	331	346,5
SES	280	140	140	140	140
Hermetiamehl	-	104,4	-	104,4	-
Spirulinamehl	-	-	84,9	-	84,9
Sojaöl	30	55	45	53	42
Prämix <sup>1</sup>	33	31	31	31	31
L-Lys·HCl	4,4	4,4	4,4	6,2	7
DL-Met	0,5	0,5	0,5	1,4	0,9
L-Thr	1,1	1,1	0,6	2	1,3
XP %	19,1	19,2	18,4	19,5	18,7
ME (MJ/kg)	13,4	14,4	14,2	14,3	14,2

<sup>1</sup> Mengen- und Spurenelemente, Vitamine, Markersubstanz (TiO<sub>2</sub>)