

A 7606

INFLUENCE SUR LE BILAN AZOTE DE L'INTRODUCTION DE PROTEINES D'ORGANISMES UNICELLULAIRES DANS L'ALIMENTATION DE SEVRAGE A 3 SEMAINES DU PORCELET

B. SEVE *

*I.N.R.A. - Station de Recherches sur l'Elevage des Porcs
C.N.R.Z. - 78350 Jouy-en-Josas*

INTRODUCTION

Le porcelet privé de sa mère exige un apport de protéines digestibles et bien équilibrées, proportionnellement plus élevé que l'animal plus âgé. Ainsi, même s'il s'abaisse avec l'âge, (HUTCHINSON et al., 1957 ; McWARD et al., 1959) le besoin en lysine du porcelet sevré précocement doit être satisfait dès le sevrage avec un taux très élevé dans l'aliment (1,30 p. 100 au poids de 4 à 5 kg selon MITCHELL et al., 1965). L'apport d'une fraction des protéines sous forme de lait écrémé permet de couvrir une partie de ce besoin. Sur le plan technique, la seule alternative ne doit pas être le choix entre le lait écrémé et le tourteau de soja, moins coûteux, mais dont les protéines sont peu digestibles chez le porcelet (HAYS et al., 1959 ; AUMAITRE et LAMBERT, 1969). Plus qu'avec tous les autres types d'animaux, c'est donc à la recherche d'autres sources de lysine, économiques et bien tolérées, que nous nous livrons. Nous avons montré que certaines farines de poisson satisfont en partie à ces impératifs (SEVE et AUMAITRE, 1975a et b). L'objet de la présente étude est de rechercher si des protéines d'organismes unicellulaires peuvent jouer le même rôle.

Comparées aux levures cultivées sur d'autres types de substrat les levures produites sur hydrocarbures sont plus riches en protéines et seraient même plus digestibles chez le porc (OSLAGE et SCHULZ, 1974).

Si l'on se réfère aux résultats obtenus sur le Veau, l'utilisation par le tout jeune animal semble plus difficile (SHACKLADY et GATUMEL, 1972 ; KIRCHGESSNER et ROTH, 1973). Pourtant, chez le porcelet allaité (VAN DER WAL et al., 1971) ou précocement sevré (NIELSEN et DANIELSEN 1971 ; NIELSEN et al., 1974), les levures cultivées sur gas-oil ou paraffines supplémentées en DL-Méthionine constitueraient une excellente source de protéines.

Le développement des cultures de bactéries sur méthanol est trop récent pour que l'on dispose de données publiées concernant le type d'animal qui nous intéresse. Le produit final présente l'avantage d'être plus riche en protéines que les levures. Mais il est moins bien pourvu en lysine et deux fois plus riche en acides nucléiques (OSLAGE et SCHULZ, 1973).

L'étude comparative de ces deux sources d'azote dans un aliment de sevrage à trois semaines est réalisée ici par la technique des bilans azotés.

MATERIEL ET METHODES

1/ Produits utilisés :

Les levures sont obtenues par un procédé de culture continue développé par le groupement français des protéines (1). Le procédé utilise une souche de levure de l'espèce *Candida tropicalis* capable d'assimiler les n-paraffines comme unique source de carbone et d'énergie (tableau 1). Nous comparons ici deux types de préparations avec ou sans traitement thermique préalable au séchage (levures B et A).

* Avec la collaboration de A. LAPANOUSE, A.M. MOUNIER et J. PEINIAU.

(1) G.F.P., 1 et 4 avenue de Bois Préau - 92500 Rueil-Malmaison.

Les bactéries sont préparées par la société I.C.I. (2) selon le procédé de culture continue schématisé au tableau 1. On utilise une bactérie du genre pseudomonas capable d'assimiler le méthanol, en milieu préalablement stérilisé.

TABLEAU 1
TECHNOLOGIE DE PREPARATION DES PRODUITS

	LEVURES CANDIDA TROPICALIS	BACTERIES PSEUDOMONAS
Substrat	n paraffines	méthanol
Conditions de culture	fermenteur air-lift milieu non stérilisé pH acide sans antimousse	fermenteur sous pression milieu stérilisé pH acide avec huile de soja
Arrêt de la culture	lavage à l'eau	température ↑ neutralisation
Récolte	centrifugation	centrifugation
Traitements thermiques	facultatif = (30° à 70° : produit B)	flash-pasteurisation
Séchage	atomisation (Tour spray)	atomisation (Tour spray)

L'analyse comparée des deux produits (tableau 2) confirme de nombreuses données (SCHULZ, 1973 ; MAURON, 1973) concernant les teneurs en protéines et en acides nucléiques. Les teneurs en lipides et en minéraux sont très comparables, la carence en calcium étant plus marquée dans le cas des bactéries. Celles-ci sont au contraire plus riches que les levures en méthionine et en isoleucine. En revanche, les teneurs en lysine des deux types de protéines sont identiques et le chiffre de 5,9 g/16 g d'azote, légèrement inférieur à celui d'un tourteau de soja, est faible pour une levure d'alcane.

TABLEAU 2
ANALYSE DES PRODUITS UTILISES p. 100 DES PRODUITS FRAIS

COMPOSITION p. 100	LEVURES (1)	BACTERIES	ACIDES AMINES INDISPENSABLES g/16 g de N.	LEVURES (2)	BACTERIES
Matières sèche	95	93	Lysine	5,9	5,9
Azote N x 6,25	60	80	(Méthionine + cystine)	2,3	3,0
Acides nucléiques	9	17	Thréonine	4,3	4,6
Lipides totaux	8	7,5	Tryptophane	0,9	0,9
Cendres	7	7,5	(Phénylalanine + Tyrosine)	6,9	6,5
Phosphore	1,6	2,7	Arginine	5,6	4,5
Calcium	0,3	0,1	Histidine	2,0	2,0
Potassium	1,6	1,4	Valine	5,0	5,6
Sodium	0,04	0,90	Isoleucine	3,6	4,3
			Leucine	6,7	6,8

(1) Le traitement thermique subi par le produit B ne modifie pas de façon significative les principaux composants.

(2) Moyenne d'analyses effectuées au laboratoire d'étude du métabolisme azoté (directeur R. PION) et au laboratoire municipal de Bordeaux.

2/ Régimes expérimentaux (tableau 3)

Tous les aliments renferment 15 p. 100 de lait écrémé et 30 p. 100 d'orge. Les deux sources azotées étudiées remplacent les protéines de la farine de hareng contenues dans l'aliment témoin (lot 1) à un premier niveau d'introductions (lots 2 ; 4 et 5) ; elles remplacent également les protéines de soja au deuxième niveau d'introduction (lots 3 et 6) réalisé dans le cas des bactéries et de la levure B. Ces substitutions font varier les apports de matières non azotées qui sont rééquilibrés grâce à l'incorporation du manioc.

TABLEAU 3
COMPOSITION ET ANALYSE DES REGIMES EXPERIMENTAUX

LOTS	1 TEMOIN	2 BACTERIES 1	3 BACTERIES 2	4 LEVURE A 1	5 LEVURE B 1	6 LEVURE B 2	
Bactéries	—	9,1	18,0				
Levures A	—	—	—	11,8			
Levures B	—	—	—	—	11,6	23,2	
Farine de Hareng de Norvège	9,3	—	—	—	—	—	
Tourteau de soja 50	13,4	13,4	—	13,4	13,4	—	
Manioc	15,9	15,4	19,95	12,55	12,75	14,7	
Mélange commun (1)	60,3	60,3	60,3	60,3	60,3	60,3	
Phosphate monocalcique	0,5	—	—	—	—	—	
Phosphate bicalcique	0,5	0,9	—	1,15	1,15	0,45	
Craie broyée	—	0,75	1,60	0,60	0,60	1,10	
DL-méthionine	0,1	0,15	0,15	0,20	0,20	0,25	
Matière sèche p. 100	91,3	92,9	91,5	93,0	92,0	92,1	
Azote p. 100 M. sèche	3,9	4,0	4,0	3,9	3,95	3,95	
Cendres p. 100 M. sèche	6,8	6,75	6,65	6,85	6,90	6,65	
Lysine	Calculé	1,47	1,36	1,32	1,36	1,36	1,32
	Contrôlé (2)	1,41	1,31	1,36	1,25	1,33	1,36
Acides aminés soufrés	Calculé	0,85	0,84	0,83	0,85	0,85	0,85
	Contrôlé (2)	0,89	0,84	0,85	0,89	0,86	0,91

(1) dont p. cent : poudre de lait écrémé : 15 - orge : 30 - sucre dénaturé : 5 - suif 1er jus : 7 - mélange minéral et vitaminique : 3 - oxyde de chrome : 0,3.

(2) Contrôles analytiques effectués par J. JUNG et G. VIROBEN.

Ainsi, le régime témoin, largement pourvu en lysine permet de situer le niveau maximum des performances. En revanche les teneurs en lysine des aliments expérimentaux sensiblement plus faibles, s'égalisent approximativement au-dessus des normes les plus généralement admises (N.R.C., 1968) pour le porcelet de 4 à 5 kg. Les apports d'acides aminés soufrés sont équilibrés par des suppléments adéquates en DL-Méthionine de synthèse. De même les taux de calcium et de phosphore sont corrigés par des apports variables de phosphate bicalcique et de craie broyée.

3/ Mise en lot, conduite de l'expérience, mesures et calculs :

Les bilans portent sur six portées sevrées à trois semaines exactement. Six porcelets homogènes de chacune de ces portées sont affectés au hasard à l'un des régimes expérimentaux dès le sevrage et placés en cage de métabolisme. Cinq périodes successives de 5 à 7 jours consécutifs sont étudiées après une semaine d'adaptation. Les coefficients d'utilisation digestive des principaux éléments de la ration sont ainsi déterminés. Le bilan de rétention de l'azote est rapporté soit à la durée de la période (azote retenu par jour) soit à la quantité d'azote absorbé (coefficient de rétention azotée).

En outre, l'influence de l'ingestion de quantités importantes d'acides nucléiques sur le catabolisme purique est recherchée grâce à une estimation de l'excrétion d'allantoïne dans l'urine (YOUNG et CONWAY,

1942). L'azote excrété sous forme d'allantoïne est rapporté de même soit, à la durée de la période soit, à la quantité d'azote absorbé.

RESULTATS

1/ Croissance et efficacité alimentaire (tableau 4) :

Les résultats de croissance et de consommation sont calculés sur la période expérimentale complète (21-58 jours). Les quantités moyennes d'aliment consommé ne diffèrent pas par suite de l'application stricte de la technique des alimentations égalisées à chaque répétition. Le remplacement des protéines de farine de hareng par les protéines bactériennes entraîne une baisse concomitante de la vitesse de croissance et de l'efficacité alimentaire (8 p. 100 environ), mais ces effets ne sont pas statistiquement significatifs. Il faut noter que le remplacement du tourteau de soja par les mêmes protéines bactériennes permet de rétablir les performances au niveau de celles du régime témoin. Aucun effet de l'introduction de levure d'alcanes dans la ration n'est visible sur la croissance ou l'efficacité alimentaire.

TABLEAU 4
PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES ET DIGESTIBILITE DES RATIONS
AU COURS DE LA PERIODE 28-58 JOURS

	TEMOIN	PROT. BACT. 1	PROT. BACT. 2	LEVURE A 1	LEVURE B 1	LEVURE B 2	Sx	DIFFERENCES(2) (test F)
Gain de poids moyen g / j	269	248	270	261	269	270	7,9	N.S.
Aliment ingéré g / j	354	347	345	344	344	344	3,3	N.S.
Indice de consommation	1,32	1,43	1,29	1,32	1,30	1,29	0,04	N.S.
C U D (1) M.Sèche	88,2	88,0	88,7	87,6	88,5	88,9	0,42	N.S.
C U D (1) Matière organique	89,5	89,1	90,1	89,4	90,2	90,4	0,37	N.S.

(1) Coefficient d'utilisation digestive apparent.

(2) N.S. : non significatif (seuil $p = 0,05$).

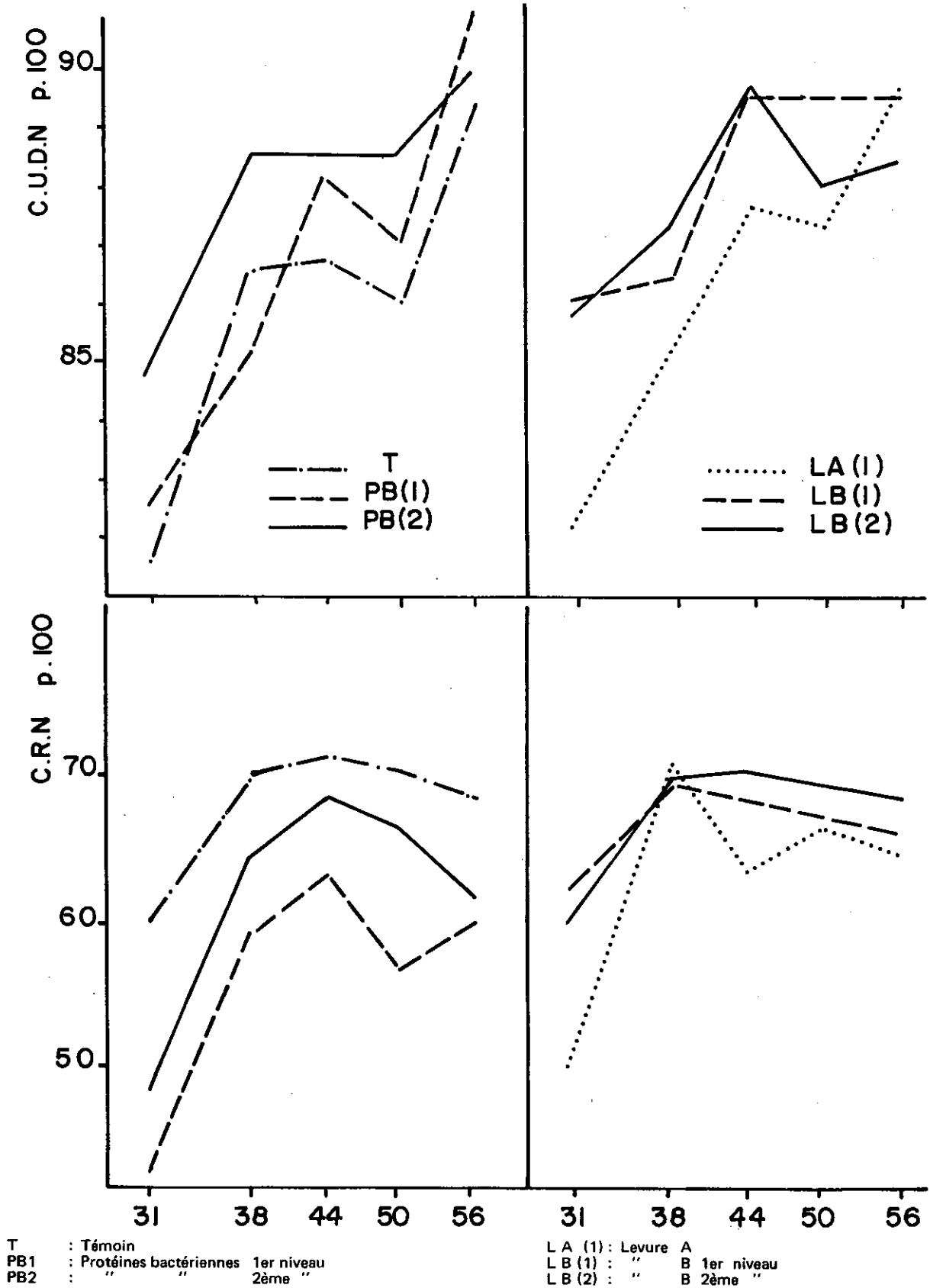
2/ Utilisation digestive des aliments :

Sur l'ensemble de la période d'étude, les coefficients d'utilisation digestive apparente de la matière sèche ou de la matière organique (tableau 4) ne dépendent pas du régime expérimental. Nous avons noté cependant que les écarts sont plus marqués au cours des premières périodes (résultats non rapportés ici) sans que les interactions période x régime ne soient significatives. Les tendances observées sont strictement les mêmes que dans le cas du C.U.D. de l'azote (tableau 5 et fig. 1). Le remplacement des protéines de hareng par les protéines bactériennes (P B₁) ou la levure A (L A₁) n'entraîne aucune variation de l'utilisation digestive de l'azote alors que celle-ci augmente ($p < 0,05$) avec la levure B (L B₁). La suppression du tourteau de soja remplacé par les bactéries (P B₂) permet également d'améliorer significativement ($p < 0,10$) la digestibilité de l'azote du régime. L'amplitude des variations évolue peu avec l'âge (fig. 1) et les interactions période x régime ne sont pas significatives. Le terme linéaire explique la plus grande part de l'augmentation de la digestibilité avec l'âge.

(voir figure 1 page suivante)

FIGURE 1

EVOLUTION DES COEFFICIENTS D'UTILISATION DIGESTIVE APPARENTE ET DE RETENTION DE L'AZOTE ABSORBE EN FONCTION DE L'AGE ET DU REGIME



3/ Rétention azotée et excrétion d'allantoïne (tableau 5) :

Au cours de la période complète d'observation, la rétention moyenne d'azote (g/j) est réduite de 9 p. 100 ($p < 0,05$) lorsque les protéines bactériennes ne remplacent que les protéines de hareng de l'aliment témoin. A l'inverse la levure 1 n'entraîne qu'une baisse de 3 p. 100 non significative de la rétention d'azote et l'aliment à base de levure B donne le même résultat que l'aliment témoin. La suppression du tourteau de soja tend à améliorer le bilan azoté surtout dans le cas des bactéries. Ces effets ne dépendent pas de l'âge de l'animal ainsi que le suggère l'absence d'interaction période x régime significative (résultats non rapportés). On relève une forte augmentation linéaire du bilan azoté avec l'âge ($P < 0,01$).

TABLEAU 5

INFLUENCE DE LA SOURCE DE PROTEINES SUR LE METABOLISME DE L'AZOTE
AU COURS DE LA PERIODE 28 - 58 JOURS (1)

	TEMOIN	PROT. BACT. 1	PROT. BACT. 2	LEVURE A 1	LEVURE B 1	LEVURE B 2	$S_{\bar{x}}$	DIFFERENCES (test F)
C U D (2) de l'Azote	85,7 ^a	86,1 ^{ab}	88,0 ^{bc}	86,1 ^{ab}	88,2 ^c	87,8 ^{bc}	0,60	$p < 0,10$
Azote retenu (g/j)	9,32 ^{ab}	8,49 ^a	9,52 ^b	9,07 ^{ab}	9,27 ^{ab}	9,53 ^b	0,27	$p < 0,05$
C.R. (3) de l'Azote absorbé	68,6 ^a	57,7 ^b	62,6 ^{ab}	63,5 ^{ab}	67,0 ^a	67,5 ^a	1,80	$p < 0,01$
Allantoïne excrétée mg de N/j	102 ^a	291 ^c	467 ^d	138 ^a	137 ^a	211 ^b	16,8	$p < 0,01$
% de N. absorbé	0,94 ^a	2,67 ^c	4,27 ^d	1,39 ^{ab}	1,12 ^a	1,88 ^b	0,14	$p < 0,01$

(1) Classement des moyennes selon DUNCAN (1955). Les valeurs affectées d'une lettre commune ne sont pas significativement différentes au seuil 0,05.

(2) Coefficient d'utilisation digestive apparente.

(3) Coefficient de rétention.

Les variations dues au régime du coefficient moyen de rétention de l'azote absorbé sont sensiblement les mêmes que celles du bilan azoté. On retrouve l'effet dépressif du remplacement des protéines de poisson par les protéines bactériennes ($p < 0,01$). L'écart avec le témoin n'est plus significatif, tout en n'étant que partiellement comblé, lorsque le tourteau de soja est également remplacé. Seule la levure A entraîne une baisse, non significative, du coefficient de rétention de l'azote. La levure B, même associée au tourteau de soja, permet d'atteindre le niveau maximum d'utilisation de l'azote absorbé. L'âge de l'animal influence peu les effets des régimes (Fig. 1) ; cependant on peut noter qu'en première période, le contraste entre l'aliment témoin (T) et celui à base de levure A (L A₁) est significatif au seuil 0,10. Globalement, la variation du coefficient de rétention azotée en fonction de l'âge suit une loi parabolique (effet quadratique : $p < 0,01$).

L'excrétion d'allantoïne augmente avec le taux de protéines d'organismes unicellulaires de la ration. La quantité excrétée est au moins deux fois plus importante dans le cas de l'ingestion de bactéries que dans celui de l'ingestion de levure, quel que soit le niveau d'introduction des produits dans l'aliment. Le traitement thermique de la levure ne semble avoir aucun effet sur le catabolisme purique puisque l'excrétion d'azote allantoinien ne diminue que relativement à l'azote digéré, tendance d'ailleurs non significative. Dans chaque lot, la quantité d'allantoïne excrétée augmente linéairement avec l'âge ($p < 0,01$) proportionnellement à l'azote absorbé (fig. 2).

(voir figure 2 page suivante)

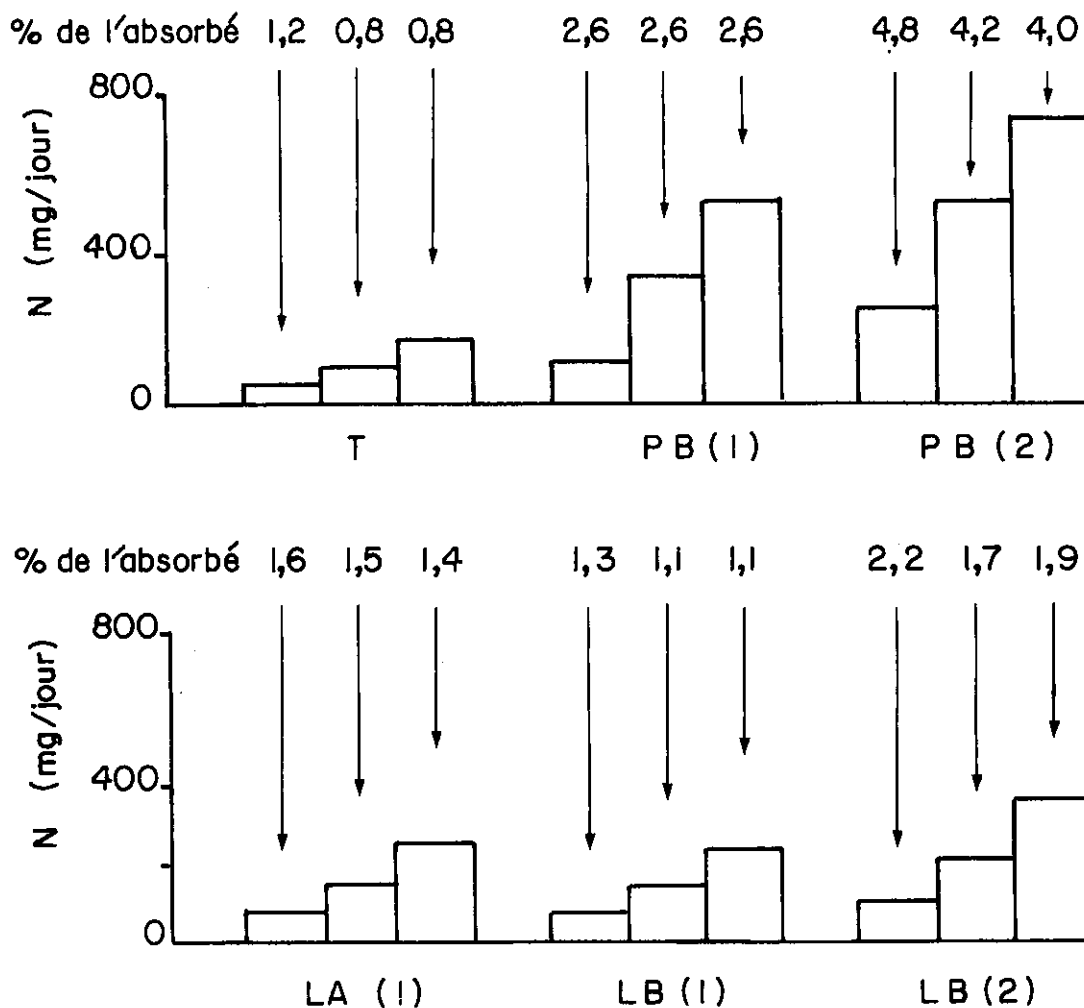
DISCUSSION

1/ Digestibilité des protéines d'organismes unicellulaires :

A l'inverse des protéines de levure cultivées sur les substrats classiques (lessives sulfiteuses, mélasses, vinasse etc...) les protéines de levure d'algues ou de bactéries cultivées sur méthanol présentent la même digestibilité qu'une farine de poisson de bonne qualité (OSLAGE et SCHULZ, 1974 ; BARBER et al. 1971). Ces

FIGURE 2

EVOLUTION DE L'EXCRETION D'ALLANTOINE EN FONCTION DE L'AGE
(PERIODES 28-35 ; 35-42 ; 52-57 JOURS) ET DU REGIME



T : Témoin
PB 1 : Protéines bactérienne 1er niveau
PB 2 : " " 2ème "

LA (1) : Levure A
LB (1) : " B 1er niveau
LB (2) : " B 2ème "

conclusions sont en accord avec nos résultats puisque le remplacement des protéines de hareng par des protéines d'organismes unicellulaires, bactéries et levures A et B, n'entraîne pas de baisse de la digestibilité de l'azote de la ration chez le porcelet sevré à 3 semaines.

Le traitement par cuisson de la suspension de levure, avant séchage, permet de parfaire l'éclatement des membranes de la cellule et rend les protéines cytoplasmiques plus accessibles aux enzymes protéolytiques (JACQUOT, 1946). Il en résulte une amélioration de la digestibilité apparente de l'azote qui n'est pas observée chez le Rat en croissance avec un produit similaire à la levure B, par VERMOREL (1974).

2/ Valeur biologique des protéines d'organismes unicellulaires :

La valeur biologique des levures d'alcanes, mesurée chez le Rat, est inférieure à celle de la caséine rééquilibrée ou à celle d'une bonne farine de poisson (OSLAGE et SCHULZ, 1974). Mais ceci provient surtout du déficit en acides aminés soufrés (SCHULZ, 1973), que nous avons éliminé par supplémentation en tenant compte des observations de NIELSEN et DANIELSEN, 1971 et de FEVRIER et al., 1973.

En réalité nous avons mis l'accent ici sur l'étude de la capacité des levures à fournir comme la farine de hareng le supplément de lysine nécessaire à la satisfaction des besoins du porcelet. Dans le travail de NIELSEN

et al. (1974), lorsque le besoin en lysine est satisfait, les performances de croissance sont indépendantes du taux de levure de la ration même si celui-ci est très élevé. Les résultats récents de TEGBE et ZIMMERMAN (1975) montrent même une amélioration des performances lorsque la levure remplace les protéines d'un mélange azoté tourteau de soja lactosérum. Ces données établissent que les levures d'alcanes constituent une excellente source de lysine disponible pour le porcelet sevré à trois semaines. Nos résultats confirment ce point de vue, au moins lorsque la levure a été traitée par cuisson. Mais, en l'absence de traitement thermique, le niveau médiocre de la rétention d'azote absorbé chez le très jeune animal (fig. 1) pourrait être consécutif à une disponibilité insuffisante d'un acide aminé (lysine ?) provenant d'une moins bonne utilisation digestive de l'azote.

La valeur biologique des bactéries supplémentées en méthionine est sensiblement la même que celle d'une bonne farine de poisson (SCHULZ, 1973 ; OSLAGE et SCHULZ, 1974). Chez le porcelet, nous avons observé que le remplacement des protéines de hareng par des protéines bactériennes entraîne, malgré la supplémentation en méthionine, une baisse importante et significative du coefficient de rétention azotée. Un tel résultat ne peut être attribué à une quelconque intolérance de l'animal vis-à-vis des protéines bactériennes puisque l'effet, loin d'être accentué par une élévation du niveau d'introduction se trouve annihilé (g d'azote retenu/jour) grâce au remplacement du tourteau de soja par ces mêmes bactéries. L'association des protéines de soja et des protéines bactériennes révélerait donc un déséquilibre nutritionnel qui n'existe pas dans la farine de hareng. Ce déséquilibre (mauvaise disponibilité d'un acide aminé ?) serait plus une caractéristique du soja que des bactéries.

3/ Utilisation des acides nucléiques par le porcelet :

L'utilisation digestive des acides nucléiques serait de l'ordre de 90 à 92 p. 100 chez le Rat (PRONCZUK et al., 1971). Une digestibilité élevée de l'azote nucléique chez le porcelet pourrait expliquer l'augmentation de l'utilisation digestive de l'azote consécutive au remplacement des protéines de soja par les protéines bactériennes.

TEGBE et ZIMMERMAN (1975) notent chez le porcelet une augmentation du taux d'acide urique plasmatique proportionnellement à la quantité de levure ingérée. Nos résultats montrent que l'acide urique excédentaire est éliminé sous forme d'allantoïne dont l'excrétion ne présente aucune difficulté. A ce titre, notons que le taux d'allantoïne urinaire de nos animaux témoins est conforme aux données de NEHRING et al. (1965) pour l'espèce porcine. Les chiffres de composition des levures ou des bactéries en acides nucléiques sont encore insuffisamment sûrs pour que l'on puisse faire un bilan précis de l'utilisation de l'azote qu'ils renferment. Cependant, d'après nos résultats une partie importante des bases puriques pourrait être réutilisée par le jeune porcelet pour ses propres synthèses.

CONCLUSIONS

L'ensemble des données bibliographiques disponibles et le présent travail montrent que les levures d'alcanes constituent effectivement une source de protéine comparable à la farine de hareng de Norvège et bien adaptée aux exigences du jeune porcelet. Nos résultats permettent de situer pour l'instant la valeur alimentaire des protéines bactériennes entre celles de la farine de hareng de Norvège et celle du tourteau de soja. Cependant, malgré une bonne tolérance du porcelet vis-à-vis des acides nucléiques, il reste à vérifier l'efficacité zootechnique réelle du produit sur un plus grand nombre d'animaux.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce à la participation des organismes suivants :

- Groupement français des protéines (M. POURQUIE) pour les levures cultivées sur alcanes,
- Imperial Chemical Industries Pharma (Dr. LACOMME) pour les protéines bactériennes,

auxquels nous adressons nos plus vifs remerciements.

BIBLIOGRAPHIE

- AUMAITRE A., LAMBERT J.J., 1969. Journées Rech. Porcine en France, 169-174. I.N.R.A. - I.T.P. éd. Paris.
- BARBER R.S., BRAUDE R., MITCHELL K.G., MYRES A.W., 1971. Br. J. Nutr. 25, 285-298.
- HAYS V.W., SPEER V.C., HARMAN P.A., CATRON D.V., 1959. J. Nutr. 69, 179-184.
- HUTCHINSON H.D., JENSEN A.H., TERRILL S.W., BECKER D.E., NORTON H.W., 1957. J. anim. Sci., 16, 553-557.
- JACQUOT R., 1946. Bull. Soc. Hyg. Alim. 20, 645-660.
- KIRCHGESSNER M., ROTH F., 1972. Züchtungsk. 45, 208-214.
- Mc WARD G.W., BECKER D.E., NORTON H.W., TERRILL S.W., JENSEN A.H., 1969. J. anim. Sci., 18, 1059-1066.
- MAURON J., 1973. Nutr. Dieta 18, 24-44.
- MITCHELL J.R., BECKER D.E., JENSEN A.H., NORTON H.W., HARMON B.G., 1965. J. anim. Sci., 24, 409.
- National Research Council 1968. Nat. Acad. Sci. Washington D.C. publ. 1599.
- NEHRING K., ZELCK U., SCHIEMANN R., 1965. Archiv. für Tierernährung 15, 45-52.
- NIELSEN H.E., DANIELSEN V., 1971. Forsogslab. Arbog. 35-38.
- NIELSEN H.E., SRIWARANARD P., DANIELSEN V., EGGUM B.O. 1974. Z. Tierphysiol. Tiererhährung u. Futtermittel.33, 151-158.
- OSLAGE H.J., SCHULZ, 1974. European Association anim. Prod. 25th Ann. Meeting Copenhagen Denmark.
- PRONÓCZUK A., LUBCZYNSKI S., BARTNIK J., 1971. Przemyst Spozywczy 25, 458-460.
- SHACKLADY C.A., GATUMEL F., 1972. In Gounelle de Pontanel H., Aix en Provence 1972, 37-57.
- SCHULZ, 1973. Proceedings of symposium on aminoacids, Brno pap. A.4.
- SEVE B., AUMAITRE A., 1975a. Journées Rech. Porcine en France, 129-136. I.N.R.A.-I.T.P. éd. Paris.
- SEVE B., AUMAITRE A., 1975b. Journées Rech. Porcine en France, 137-144. I.N.R.A.-I.T.P. éd. Paris.
- TEGBE S.B., ZIMMERMAN P.R., 1975. J. anim. Sci., 41, 329 (abstr.).
- VERMOREL M., 1974. Résultats non publiés.
- WAL P., VAN DER, SHACKLADY C.A., 1971. Proc. Xth Int. Congr. of Anim. Nutrition Paris, Versailles.
- YOUNG E.G., CONWAY C.F., 1942. J. Biol. Chem., 142, 839-853.