

GENNEMFØRTE AKTIVITETER I FORBINDELSE MED ETABLERING AF FORDØJELIGHEDSFACILITETER PÅ FORSØGSSTATION GRØNHØJ

Uffe Pinholt Krogh og Karoline Blaabjerg

SEGES Innovation P/S

STØTTET AF

Svineafgiftsfonden

Hovedkonklusion

Faciliteter og procedurer til bestemmelse af ileale fordøjeligheder er etableret på Forsøgsstation Grønhøj således, at der i 2024 kan gennemføres rutinemæssige bestemmelser af ileale fordøjeligheder samtidig med, at faciliteter og procedurer til bestemmelse af fækale fordøjeligheder etableres. Indledende aktiviteter har vist, at den bedst egnede markør til bestemmelse af ileale fordøjeligheder under gældende forhold er yttrium i forhold til markørerne celite og titanium.

Sammendrag

Der er gennemført en række aktiviteter for at sammenligne og afprøve metoder (total opsamling og markør) og markører (yttriumoxid, celite og titaniumdioxid) for at etablere faciliteter arbejdsprocedurer forbundet med bestemmelse af ileale fordøjeligheder.

Målte værdier for basalt endogent tab af kvælstof og aminosyrer samt de fastlagte ileale fordøjeligheder stemmer godt overens med litteraturværdier og beregnede værdier for fordøjeligheder. Yttrium vurderes samlet set at være den bedst egnede markør til bestemmelse af ileale fordøjeligheder under de givne forudsætninger. Dette gør det muligt at gennemføre rutinemæssige bestemmelser af ileale fordøjeligheder på Forsøgsstation Grønhøj.

Aktivitet 1: Markører tilsat foder – genfinding i foder

Andelen af markør (celite og yttrium) tilsat foder, som kunne genfindes via kemisk analyse af foderet, blev bestemt for at få kendskab til analysesikkerhed og et bedre grundlag for at kvalitetssikre

procedurer for opblanding af markører i foder og udtagning af repræsentative prøver. Omkring 106 % af tilsat yttrium og omkring 83 % af tilsat celite kunne genfindes via kemiske foderanalyser.

Aktivitet 2: Markører tilsat gødning – genfinding i gødning

Indholdet af næringsstoffer i tyndtarmsindhold og gødning samt andelen af markør (celite, yttrium og titanium) tilsat gødning, som kunne genfindes via kemisk analyse af gødningen, blev bestemt for at få kendskab til analysesikkerhed af markører i gødning. Resultaterne viste næsten 100 % genfinding af den mængde celite, yttrium og titanium, der blev tilsat gødningsprøverne. Titanium indgik i denne aktivitet, da der blev givet en generel dispensation til anvendelse i fordøjelighedsforsøg. Det anvendte titanium viste sig senere at være en opløselig titaniumforbindelse, som ikke kan anvendes i foder til fordøjelighedsbestemmelse.

Aktivitet 3: Afblanding af markører ved iblanding og transport af foder

Indholdet af celite (analyseret som syreuopløseligt aske), yttrium, og titanium blev målt i foder I) fem steder i takt med, at foderet løb ud af blanderen efter 8 minutters blanding, og II) i de øverste 10 cm af big bag efter blanding og transport på lastbil. Dette blev gennemført for at undersøge, om der var tegn på lagdeling af markører i foder (afblanding) i forbindelse med produktion og transport. Resultaterne viste ikke tydelige tegn på lagdeling/afblanding af markører, hverken i forbindelse med iblanding af markør eller transport af foder i big bags. Analyselaboratoriet er ikke lykkedes med at genfinde den anvendte titaniumforbindelse (titaniumdioxid), hverken i foder eller gødning.

Aktivitet 4: Markører tilsat foder – genfinding i gødning samt fordøjelighed bestemt med markør vs. total opsamling

Tilsyneladende fækale fordøjeligheder af næringsstoffer blev bestemt for slagtegrisefoder ved total gødningsopsamling samt ved brug af fordøjelighedsmarkører. Samtidig blev andelen af markør (celite og yttrium) tilsat foder, som efterfølgende kunne genfindes i gødning, bestemt. Dette havde til formål at sammenligne og afprøve metoder (total opsamling og markør) og typer af markører (celite og yttrium). Resultaterne viste en tilfredsstillende overensstemmelse mellem fordøjeligheder bestemt med celite og med yttrium). Fordøjeligheder bestemt ved total opsamling var imidlertid betydelig højere, formentlig pga. underestimering af foderrester og gødningsmængden. Dette underbygges af en ikke-tilfredsstillende genfindingsprocent fra foder til gødning (75 % for celite og 80 % for yttrium), hvilket har givet anledning til videreudvikling af balanceburenes udformning. Derudover vil der blive arbejdet videre med procedurer til bestemmelse af fækale fordøjeligheder i 2024.

Aktivitet 5: Ileale fordøjeligheder og basalt endogent tab af kvælstof og aminosyrer

Alle arbejdsgange og -procedurer vedrørende bestemmelse af tilsyneladende og standardiserede ileale fordøjeligheder blev gennemført for at afprøve de etablerede faciliteter og procedurer til bestemmelse af ileale fordøjeligheder på Forsøgsstation Grønhøj. Aktivitet 5 viste god overensstemmelse mellem forventede og målte værdier for både næringsstoffordøjeligheder og basalt tab af kvælstof og aminosyrer. Alle involverede arbejdsprocedurer til bestemmelse af tyndtarmsfordøjeligheder er beskrevet særskilt.

Introduktion

SEGES Innovation har i 2023 etableret faciliteter og procedurer på Forsøgsstation Grønhøj til bestemmelse af ileal fordøjelighed og vil i 2024 etablere faciliteter og procedurer til bestemmelse af fækal fordøjelighed. Dette for at kunne sikre en løbende opdatering af fordøjelighedsværdierne i Fodermiddeltabellen, som er nøgleværdier for optimering af foder til grise.

Der skelnes mellem to typer af fordøjeligheder – **fækal fordøjelighed** og **ileal fordøjelighed**. Den fækale fordøjelighed af et givent næringsstof er defineret som forskellen mellem den mængde, der indtages via foderet og den mængde, der er tilbage i gødningen. Ligeledes er den ileale fordøjelighed af et givent næringsstof defineret som forskellen mellem den mængde, der indtages via foderet og den mængde, der er tilbage i tarmindeholdet målt ved enden af grisens tyndtarm (ileum) før det transporteres videre til blind- og tyktarm. Fordøjeligheder af et næringsstof angives typisk i procent af foderets indhold.

<u>Fækal fordøjelighed af næringsstof:</u>	Indtag via foder – udskilt med gødningen
<u>Ileal fordøjelighed af næringsstof:</u>	Indtag via foder – udskilt ileum-indhold (sidste del af tyndtarm, før overgang til blind- og tyktarm).

I det danske fodervurderingssystem anvendes fækale fordøjeligheder til at beskrive næringsværdien af foderets mineraler (fosfor), mens ileale fordøjeligheder anvendes til at beskrive næringsværdien af foderets protein og aminosyreindhold [1].

Fordøjeligheden af et næringsstof i en foderblanding bestemmes ved **total opsamling** eller ved brug af **fordøjelighedsmarkør**.

Ved total opsamling registreres det totale indtag af foder og den totale udskilte mængde af tarmindehold, der passerer tyndtarmen (ved ileal fordøjelighed) eller den totale mængde af gødning (ved fækal fordøjelighed) [2]. Total opsamling giver mulighed for at lave en direkte beregning af fordøjeligheden af et givent næringsstof som forskellen mellem det totale indtag via foderet og den totale mængde udskilt fra ileum eller i gødning [3].

Brug af fordøjelighedsmarkør er en indirekte procedure til fordøjelighedsbestemmelse af et næringsstof baseret på målinger af koncentrationen af det givne næringsstof og den anvendte fordøjelighedsmarkør i både foder og tarmindehold/gødning [4]. En ideel fordøjelighedsmarkør er kemisk nem at analysere, er ikke-toksisk og fordeler sig ensartet i foder, tarmindehold og gødning. Desuden er det et krav, at den skal passere ufordøjet gennem mave-tarmkanalen, underforstået at den ikke optages af grisen, er ikke-omsættelig i tarmen og har en fuldstændig udskillelse fra mave-tarmkanalen. Markører, der opfylder disse krav, kan derfor bruges som referencepunkt til at beregne fordøjeligheden af et givent næringsstof [2].

Total opsamling anvendes oftest til at bestemme fækale fordøjeligheder, mens den ileale fordøjelighed oftest bestemmes ved brug af fordøjelighedsmarkør.

Titaniumdioxid har tidligere været den hyppigst anvendte fordøjelighedsmarkør til griseforsøg i Europa, men er blevet forbudt til anvendelse i fødevarer og foder i EU fra januar 2022. Der er givet dispensation til, at titaniumdioxid fortsat kan anvendes som markør i fordøjelighedsforsøg. Derudover er markører som yttrium og celite (ingen restriktioner) almindelig anvendt i fordøjelighedsforsøg.

Formålet med dette notat er at beskrive de aktiviteter, der er blevet gennemført som led i at etablere faciliteter og procedurer for bestemmelse af fækale og særligt ileale fordøjeligheder.

For at kunne etablere faciliteter og procedurer til bestemmelse af fækale og ileale fordøjeligheder er der blevet gennemført forskellige aktiviteter for at afprøve metoder (total opsamling og markør), sammenligne markører (titanium dioxid, yttrium oxid, celite) og fastlægge arbejdsprocedurer.

De udarbejdede manualer med detaljerede beskrivelser af de forskellige arbejdsprocedurer, som blev etableret før, under og efter gennemførslen af aktiviteterne, er beskrevet særskilt: "Procedurer til bestemmelse af ileale fordøjeligheder".

De gennemførte aktiviteter beskrives enkeltvist nedenfor og er opdelt i følgende:

- **Aktivitet 1:** Markører tilsat foder – genfindning i foder.
- **Aktivitet 2:** Markører tilsat gødning – genfindning i gødning.
- **Aktivitet 3:** Afblanding af markører ved iblanding og transport af foder
- **Aktivitet 4:** Markører tilsat foder – genfindning i gødning samt fordøjelighed bestemt med markør vs. total opsamling.
- **Aktivitet 5:** Bestemmelse af ileal fordøjelighed og basalt endogent tab af protein og aminosyrer.

Aktivitet 1: Markører tilsat foder – genfindning i foder

En forudsætning for, at en markør er anvendelig til fordøjelighedsforsøg er, at den tilsatte mængde til foderet kan genfindes via analyse. Dette kræver, at markøren opblandes homogent i foderet, at prøver af foderet til analyselaboratoriet udtages repræsentativt, at den lille prøvemængde til selve analysen udtages repræsentativt, samt at markøren kan bestemmes i en kemiske analyse med tilstrækkelig sikkerhed.

Titaniumdioxid er en almindeligt anvendt fordøjelighedsmarkør til grise. Titaniumdioxid blevet forbudt til anvendelse i fødevarer og foder i EU fra januar 2022. Denne aktivitet blev gennemført i forsommeren 2022. På dette tidspunkt havde Fødevarestyrelsen ikke givet en betinget dispensation til at anvende titaniumdioxid til fordøjelighedsforsøg. Dette er årsagen til, at titaniumdioxid ikke indgår i denne aktivitet.

Yttriumoxid er en almindelig fordøjelighedsmarkør i akvakultur, og celite (også kaldte kiselgur og sand) har også været anvendt som fordøjelighedsmarkører til grise. Aktivitet 1 blev derfor gennemført for dels at få kendskab til analysesikkerheden på de to markører i foder og dels for at få et bedre grundlag for at kvalitetssikre procedurer for opblanding af markører i foder og udtagning af repræsentative prøver.

Formålet med aktiviteten var derfor at undersøge, hvor stor en andel af markører tilsat til foder, som kunne genfindes via kemisk analyse af foderet ved:

- Forskellige tilsætningsniveauer af celite og yttrium
- Iblanding af markørerne i små (ca. 300 g) og store (ca. 10 kg) portioner.

1.1. Materiale og metode

I denne aktivitet indgik markørerne, Celite (Celite 545®) og yttrium i form af yttriumoxid (Y_2O_3). Begge markører blev tilsat i fire niveauer til en standard foderblanding til drægtige søer (melfoder). De planlagte tilsatte niveauer var:

- Celite: 0, 8, 16, og 24 g Celite/kg foder
- Yttrium (Y): 0, 200, 600 og 1000 mg Y_2O_3 /kg foder (svarende til 0, 157, 472 og 787 mg Y/kg foder).

Celite og yttrium blev tilsat små portioner af foder (300 g, **Små portioner**) og større portioner af foder (10 kg, **Store portioner**).

Til portioner á 300 g blev der udtaget ca. 10 kg foder, som blev neddelte i 32 portioner á ca. 300 g (små portioner). I alt 24 af de 32 neddelte portioner blev overført til plastikposer, hvor markørerne blev tilsat direkte i posen til 18 af de 24 portioner (6 af de små portioner blev ikke tilsat mørkører). Foder og markører blev herefter blandet manuelt ved at rotere poserne i alt 80 gange. De 24 små portioner blev derefter sendt til analyse (24 prøver).

Celite og yttriumoxid blev ligeledes tilsat 6 portioner á 10 kg (stor portion). De 6 store portioner (10 kg) blev blandet manuelt med markørerne i en plastiktønde ved at rotere den i alt 80 gange. Efter manuel blanding af de store portioner, blev hver portion neddelte til 16 prøver, hvoraf 3 stk. fra hver af de 6 store prøver blev sendt til analyse (18 prøver).

I alt blev 42 prøver analyseret for henholdsvis celite og yttrium, heraf 24 prøver fra små portioner og 18 prøver fra de 6 store portioner. Planlagt indhold af celite og yttrium oxid i hver af de 42 prøver er vist i

Appendiks 1.

Foderet, som markørerne blev tilsat, var en drægtighedsblanding (mel, fuldfoder, blanding 2, Dr. 88-110, Mineral D 19222 (6)) fra afprøvning nr. 1765 bestående af hvede (20,5 %), byg (60,5 %), roepiller (5 %), sojaskrå (9,6 %), sojaolie (1 %) samt mineral, vitamin og aminosyre forblending (3,4 %).

Foderprøverne blev analyseret ved analyselaboratoriet Eurofins. Celite blev analyseret som syreuopløseligt aske (Sand, CE043) og yttrium blev analyseret vha. ICP-OES (Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy, DJ486 [prøveforberedelse] og DJ422 [Y]).

Genfindingsprocenten af henholdsvis yttrium (Y) og celite blev beregnet som det analyserede indhold fratrukket det basale (naturlige) indhold af hhv. yttrium og celite i forhold den tilsatte mængde af markør. Det basale indhold var det gennemsnitlige analyserede markørindhold i de prøver, hvor der ikke blev tilsat markør. Genfindingsprocenten af henholdsvis yttrium (Y) og celite blev beregnet på følgende måde:

$$Y \text{ genfinding, \%} = \frac{\left(Y_{analyse, \frac{g}{kg}} \times \text{prøvestr., kg}\right) - \left(gns. basal Y_{analyse, \frac{g}{kg}} \times \text{prøvestr., kg}\right)}{Y_2O_3 \text{ tilsat, g} \times 0,787 \text{ g Y/g } Y_2O_3} \times 100$$

$$Celite \text{ genfinding, \%} = \frac{\left(Celite_{analyse, \frac{g}{kg}} \times \text{prøvestr., kg}\right) - \left(gns. basal Celite_{analyse, \frac{g}{kg}} \times \text{prøvestr., kg}\right)}{Celite \text{ tilsat, g}} \times 100$$

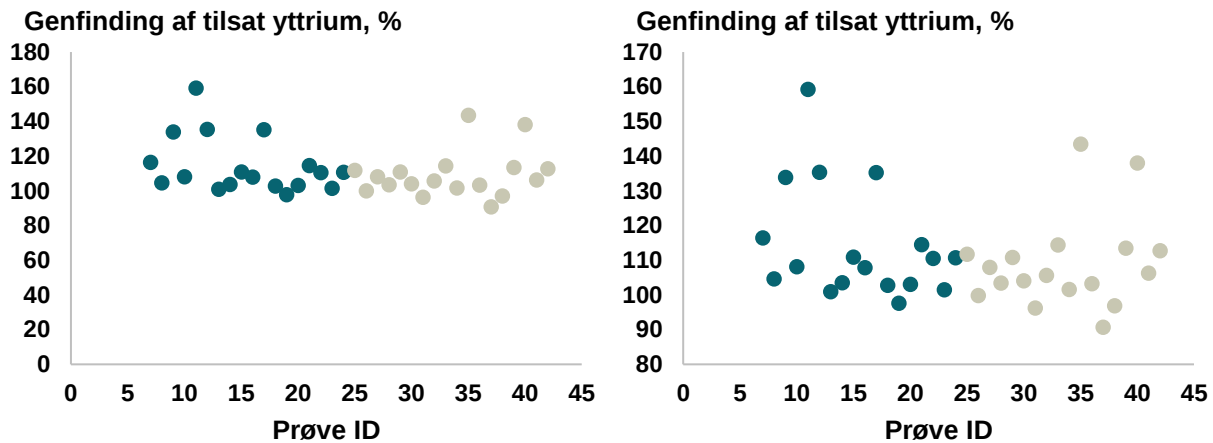
1.2. Resultater

Yttrium

Figur 1 viser, genfindingen af yttrium beregnet for individuelle prøver. Størstedelen af de individuelle genfindingsprocenter ligger i intervallet mellem 100 og 115 %. Dette gælder både for små (0,3 kg) og store portioner (10 kg). For 6 af de 36 prøver, hvor der blev tilsat (spiket med) yttriumoxid (Y_2O_3), var genfindingen over 130 %. Disse 6 prøver betragtes som outliers. Fire af de 6 outliers var fra 0,3 kg prøverne, hvor de 3 var ved spiking-niveau 200 mg Y_2O_3 /kg (157 mg Y/kg) og den fjerde ved spiking-niveau 600 mg Y_2O_3 /kg (486

mg Y/kg). De resterende to outliers var fra 10 kg prøverne og spiking-niveau 600 og 1000 mg Y_2O_3 /kg (486 og 812 mg Y/kg).

Det er forventeligt, at usikkerheden på genfinding af yttrium vil være højere, desto lavere spiking-niveau, idet spiking-niveauet vil udgøre en mindre andel af det basale indhold i prøverne.



Figur 1. Genfinding af yttrium tilsat i form af yttriumoxid. Blågrønne symboler er 0,3 kg prøver (små portioner), mens grå symboler er 10 kg prøver (store portioner). Figureerne viser plot af alle prøver, blot med forskellig y-akse.

Tabel 1 viser den gennemsnitlige procentvise genfinding af yttrium for alle prøver og for henholdsvis små (0,3 kg) og store (10 kg) portionsstørrelser. Det basale indhold af yttrium blev analyseret til 10,9 mg Y/kg foder (**Tabel 1**).

For alle prøverne var den gennemsnitlige genfinding på tværs af alle spiking-niveauer 112 % samt 106 % efter udtagning af de 6 outliers. Udtages outliers ses nogenlunde samme genfinding for 0,3 og 10 kg prøver samt alle tre spiking-niveauer.

Tabel 1. Planlagt, tilsat og analyseret indhold af yttrium (Y) pr. kg foder tilsat i form af yttriumoxid Y_2O_3 til drægtighedsfoder samt genfindning af Y i forhold til tilsat indhold. Gns. $\pm$ SD.

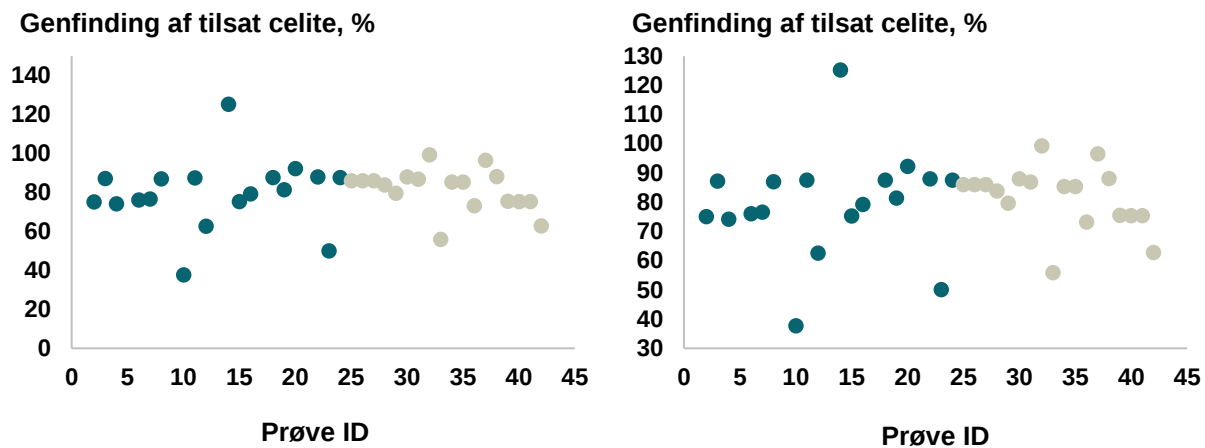
Planlagt Y ₂ O ₃ mg/kg	Planlagt Y mg/kg	n	Tilsat Y mg/kg	Analyseret Y (inkl. basal Y) mg/kg	CV %	Genfindning af tilsat Y, %	
						Alle data	Ekskl. outliers
Basal indhold							
0 ¹	0 ¹	6	0	10,9 ± 6	52	-	-
Alle prøver							
200	157	12	160	197 ± 27	14	116	107
600	472	12	485	547 ± 71	13	110	105
1000	787	12	800	873 ± 95	11	108	105
Gns.	472	36	482	539 ± 325	60	112	106
Markør tilsat 0,3 kg foderprøver (lille portion)							
200	157	6	159	211 ± 32	15	126	110
600	472	6	486	546 ± 63	11	110	105
1000	787	6	812	872 ± 47	5	106	106
Gns.	472	18	486	543 ± 338	62	114	107
Markør tilsat 10 kg foderprøver (stor portion) ²							
200	157	6	161	182 ± 7	4	106	106
600	472	6	484	547 ± 85	15	111	104
1000	787	6	787	873 ± 132	15	110	104
Gns.	472	18	477	534 ± 348	65	109	105

¹ Standard drægtighedsfoder ikke tilsat markør (basalt indhold af yttrium). ² 10 kg prøver blev ikke analyseret for basalt indhold af yttrium, da det må antages ikke at være påvirket af, hvorvidt det måles i 0,3 eller 10 kg prøver.

Celite (syreuopløselig aske)

Celite blev analyseret som syreuopløseligt aske. **Figur 2** viser genfindingen af celite beregnet for individuelle prøver. Størstedelen af de individuelle genfindingsprocenter ligger i intervallet mellem 70 og 90 %. Dette gælder både for små (0,3 kg) og store portioner (10 kg). For 5 af de 36 prøver, hvor der blev spiket med celite, ligger genfindingen under 70 % og for én af prøverne ligger genfindingen på 125 %. Disse 6 prøver betragtes som outliers. Fire af de 6 outliers er fra 0,3 kg prøverne, hvor de 3 er ved spiking-niveau 8 g celite/kg foder (to under 70 % og én på 125 %) og den fjerde er ved spiking-niveau 16 g celite/kg foder (50 %). De resterende to outliers er fra 10 kg prøverne og spiking-niveau 16 g celite/kg foder (56 og 63 %). Der er kun sammenfald mellem én af de 6 Y-outliers og de 6 celite-outliers. Det kunne indikere, at opblandingen ikke er årsag til de i alt 12 outliers. Fejl under afvejning eller under analyse kan være to bud (blandt flere) på forklaringer for outliersne.

Det er forventeligt, at usikkerheden på genfindning af celite vil være højere desto lavere spiking-niveau, idet spiking-niveauet vil udgøre en mindre andel af det basale indhold i prøverne. Ved spiking-niveau 8 g celite/kg foder udgjorde det basale indhold 37 % af det analyserede indhold (4,0 g/kg ud af 10,7 g/kg, se **Tabel 2**). Derudover skal det nævnes, at det basale indhold af syreuopløselig aske udgør en relativ stor andel af det analyserede indhold, og er derfor vigtig for beregning af genfindingsprocenten.



Figur 2. Genfindning af celite (analyseret som syreuopløseligt aske). Blågrønne symboler er 0,3 kg prøver (små portioner), mens grå symboler er 10 kg prøver (store portioner). Figureerne viser plot af alle prøver, blot med forskellig y-akse.

Tabel 2 viser den gennemsnitlige procentvise genfindning af celite for alle prøver og når de inddeles i henhold til, om det er 0,3 kg eller 10 kg prøver. Det basale indhold af celite blev målt til 4,0 g/kg foder (**Tabel 2**). For alle prøverne var den gennemsnitlige genfindning på tværs af alle spiking-niveauer 81 % og 83 % ved udtagning af de 6 outliers. Udtages outliers ses generelt samme genfindning for 0,3 og 10 kg prøver og for de tre spiking-niveauer.

Tabel 2. Planlagt, tilsat og analyseret indhold af celite (g/kg foder) til drægtighedsfoder samt genfindning af celite i forhold til tilsat indhold. Celite blev analyseret som syreuopløseligt aske. Gns. $\pm$ SD.

Planlagt celite	n	Tilsat celite	Anal. celite (inkl. basal celite)	CV	Genfindning af tilsat celite, %	
g/kg		g/kg	g/kg	%	Alle data	Ekskl. outliers
Basal indhold						
0 ¹	6	0	4,0 ± 0	0	-	-
Alle prøver						
8	12	8,1	10,7 ± 1,6	14,6	83	83
16	12	16,0	16,2 ± 2,3	14,2	76	83
24	12	23,9	23,8 ± 2,2	9,1	83	85
Gns.	36	16	16,9 ± 6,1	36,2	81	83
Markør tilsat 0,3 kg foderprøver (lille portion)						
8	6	8,0	10,5 ± 2,3	21,5	82	82
16	6	15,9	16,2 ± 2,2	13,8	76	82
24	6	24,0	23,3 ± 2,6	11,1	80	84
Gns.	18	16	16,7 ± 6,4	38,3	79	82
Markør tilsat 10 kg foderprøver (stor portion) ²						
8	6	10,8	84 ± 0,4	3,8	84	84
16	6	16,2	76 ± 2,6	15,9	76	84
24	6	24,3	85 ± 1,8	7,2	85	85
Gns.	18	17,1	82 ± 6,5	38,1	82	84

¹ Standard drægtighedsfoder, hvor der ikke blev tilsat markør (basalt indhold af celite).

² 10 kg prøver blev ikke analyseret for basalt indhold af celite, da det må antages ikke at være påvirket af, hvorvidt det måles i 0,3 eller 10 kg prøver.

1.3. Delkonklusion

Genfindingen var omkring 106 % af den tilsatte mængde til foderet for yttrium og omkring 83 % for celite. Baseret alene på disse genfindingsresultater i foderet, ser yttrium derfor ud til at være den bedste af de to markører. Resultaterne siger dog intet om genfindning i ileum-indhold/gødning eller markørernes kvalitet i fordøjelighedsbestemmelser med de to markører. På baggrund af genfindingsresultaterne i foderet anvendes begge markører i Aktivitet 2, hvor genfindingen af markørerne undersøges ved direkte tilsætning til gødning.

Aktivitet 2: Markører tilsat gødning – genfinding i gødning

En forudsætning for, at en markør er anvendelig til fordøjelighedsforsøg er, at den kan analyseres i prøvematrixer som ileum-indhold og gødning. Ved forespørgsel hos analyselaboratoriet Eurofins om muligheder for analyse af celite, yttrium og titanium i ileum-indhold og gødning blev det fra Eurofins side foreslået, at vi købte testanalyser og gennemførte et spiking-forsøg hos dem, da de ikke på forhånd kunne garantere, at de kunne analysere for næringsstoffer, celite, yttrium og titanium i disse prøvetyper, da disse prøvematrixer er anderledes end foder.

I juli 2022 fik vi kendskab til, at Fødevarestyrelsen havde givet dispensation til at anvende titanium som markør i fordøjelighedsforsøg uden særskilt godkendelse. Denne dispensation er givet efter en gennemgang af EU-reglerne under disse forudsætninger:

- Forsøg med titanium som markør udføres separat fra andre fodringsaktiviteter.
- Forsøgsfoder holdes tydeligt adskilt fra andet foder (forsøgsfoderet kan f.eks. mærkes "forsøgsfoder").
- Dyrene må ikke indgå i fødevarekæden.

Denne dispensation gjorde det relevant at inddrage titanium som en mulig markør ifm. fordøjelighedsforsøg på Forsøgsstation Grønhøj.

Formålet med denne aktivitet var at undersøge, hvor stor en andel af de tilsatte markører hhv. celite (Celite 545®), yttrium i form af yttriumoxid (Y_2O_3) og titanium i form af titanium dioxid (TiO_2), der kunne genfindes via analyse af gødning, når markørerne blev tilsat gødning, samt analysere næringsstofindholdet af udvalgte næringsstoffer i ileum-indhold og gødning. Sidst nævnte for at undersøge, om anvendte kemiske analysemetoder til foder også kan anvendes til bestemmelse af næringsstofindhold i ileum-indhold og gødning.

2.1. Materiale og metode

Ileum-indhold og gødning blev udtaget fra grise på Forsøgsstations Grønhøj, der skulle aflives af andre årsager. Prøverne med ileum-indhold og gødning blev frosset ned og sendt til analyselaboratoriet Eurofins, som gennemførte analyser af næringsstofindholdet i ileum-indhold og gødning samt test af genfinding af markører tilsat gødning (spikeforsøg). Markørerne blev tilsat en delmængde af den tørrede gødning på laboratoriet.

Analyse af næringsstofindhold i ileum-indhold og gødning

Ileum-indhold og gødning blev frysetørret og analyseret for indhold af næringsstoffer. Efter næringsstofanalysen var der ikke tilstrækkeligt med prøvemateriale af ileum-indholdet. Derfor blev spike-forsøget udført på 3 gødningsprøver.

Yttrium, celite og titanium tilsat gødning - genfinding i gødning (spikeforsøg)

De 3 gødningsprøver blev analyseret for titanium, yttrium og celite for at bestemme det basale indhold af de 3 markører i gødningsprøverne. De 3 gødningsprøver blev ligeledes spiket med celite, yttrium i form af yttriumoxid og titanium i form af titaniumdioxid og efterfølgende analyseret. De tilsatte niveauer til gødningsprøverne var:

- 60 g celite/kg tørstof (planlagt niveau var 60 g celite/kg tørstof)
- 10,66 mg Y/kg tørstof (planlagt niveau var 1,0 g yttriumoxid/kg tørstof)
- 88,16 mg Ti/kg tørstof (planlagt niveau var 1,0 g titaniumdioxid/kg tørstof)

Genfindingsprocent for celite, yttrium og titanium er beregnet som gennemsnitlige markørindhold for spikede prøver minus gennemsnitligt basalt indhold af markør i forhold til tilsat mængde af markør:

$$\text{genfinding, \%} = \frac{\left(\text{Markør i spiket prøve, } \frac{g}{kg} \right) - \left(\text{gennemsnit af markør i ikke spikede prøver, } \frac{g}{kg} \right)}{\text{Markør tilsat, } \frac{g}{kg}} \times 100$$

Vi har efterfølgende fundet ud af, at det anvendte titanium var en flydende form og ikke, som planlagt, fast form (titaniumdioxid). De kemiske egenskaber for det anvendte titanium (flydende form) og titaniumdioxid (fast form) er forskellige. Dermed er genfindingsprocenten for det anvendte titanium ikke repræsentativ for titaniumdioxid. Vi er derudover blevet opmærksomme på, at de tilsatte niveauer af yttrium og titanium var betydeligt lavere end planlagt. Dette har formentlig ikke betydning for de fundne genfindingsprocenter for celite og yttrium.

En af de 3 prøver gik tabt i analysen for titanium og yttrium.

2.2. Resultater

Analyse af næringsstofindhold i ileum-indhold og gødning

Næringsstofindhold i ileum-indhold og gødning er vist i **Tabel 3**. De kemiske analyser kunne gennemføres uden problemer og både niveauet og spredningen på næringsstofindholdet viste ingen umiddelbare indikationer på, at der skulle være udfordringer med at analysere på prøvematrixer som gødning og ileum-indhold. Dette blev vurderet ud fra, om laboranterne bemærkede problemer ifm. håndtering og analyse af prøverne samt ved en grov vurdering af, om analyseresultaterne og spredning så nogenlunde fornuftige ud. Altså en grov vurdering forud for de senere fordøjelighedsbestemmelser og genfindinger af markør i gødning tilsat foder.

Tabel 3. Næringsstofindhold i ileum-indhold og gødning, Gns. $\pm$ SD.

		Ileum-indhold		Gødning	
		Gennemsnit	SD	Gennemsnit	SD
n		3		3	
Tørstof	%	9,4	0,00	25,7	0,06
vand i frysetørret vare	%	11,9	0,12	15,5	0,15
Råaske	% af TS	-	-	13,3	0,25
Råfedt	% af TS	-	-	8,0	0,23
Råprotein	% af TS	26,0	0,12	23,5	0,64
Aminosyre					
Lys	g/kg TS	14,0	0,12	13,9	0,38
Met	g/kg TS	3,4	0,06	4,5	0,16
Cystein+Cystin	g/kg TS	5,0	0,06	3,2	0,04
Thr	g/kg TS	10,9	0,10	10,7	0,29
Ile	g/kg TS	9,2	0,12	9,6	0,36
Leu	g/kg TS	16,6	0,20	14,7	0,61
Val	g/kg TS	12,1	0,12	11,8	0,23
His	g/kg TS	4,9	0,05	3,7	0,20
Phe	g/kg TS	10,4	0,23	9,4	0,37
Tyr	g/kg TS	7,4	0,10	7,6	0,33
Arg	g/kg TS	8,1	0,32	8,5	0,43
Pro	g/kg TS	13,3	0,26	9,6	0,52
Glu (sur)	g/kg TS	35,4	0,15	23,9	0,72
Asp	g/kg TS	22,5	0,26	20,2	0,74
Ser	g/kg TS	10,1	0,12	9,0	0,36
Gly	g/kg TS	14,1	0,10	10,8	0,40
Ala	g/kg TS	14,3	0,00	13,3	0,49
Sum af aminosyrer	g/kg TS	212	1,30	184	6,22
Mineraler					
Ca	g/kg TS	-	-	25,1	0,78
P	g/kg TS	-	-	15,5	0,30
Mg	g/kg TS	-	-	9,6	0,39
K	g/kg TS	-	-	11,5	0,87
Na	g/kg TS	-	-	1,6	0,09
Cu	mg/kg TS	-	-	105	4
Fe	mg/kg TS	-	-	1780	104
Mn	mg/kg TS	-	-	291	248

Yttrium, celite og titanium tilsat gødning - genfindning i gødning (spikeforsøg)

Genfindingen af titanium, yttrium og celite i gødning (og tilsat gødning) er vist i **Tabel 4**. Genfindingen var 94 % for yttrium, 96 % for titanium og 99% for celite. Der var størst spredning på titanium.

Tabel 4. Genfindning af titanium, yttrium og celite tilsat gødning. Celite blev analyseret som syreopløseligt aske. Gns. $\pm$ SD.

	n	Tilsat mængde (Afvejet)	Analyseret indhold i gødning		Genfindning, %
			Basalt indhold (ingen tilsat markør)	Spiket prøve (Basal + tilsat)	
Titanium, mg Ti/ kg tørstof	2	88,15	33,83 $\pm$ 0,0	118,5 $\pm$ 7,0	96 $\pm$ 8,0
Yttrium, mg Y/kg tørstof	2	10,66	1,99 $\pm$ 0,0	12,03 $\pm$ 0,27	94 $\pm$ 2,5
Celite, g /kg tørstof ¹	3	60,0	16,7 $\pm$ 0,6	76,3 $\pm$ 1,5	99 $\pm$ 3,5

¹ Celite analyseres som syreopløselig aske.

2.3 Delkonklusion

Bestemmelser af næringsstoffer i ileum-indhold og gødning var tilfredsstillende. Det vurderes derfor, at kemiske analysemetoder til bestemmelse af næringsstofindhold i foder også kan anvendes til bestemmelse af næringsstofindholdet i ileum-indhold og gødning.

Genfindingen af markør tilsat gødningsprøver viste, at det var muligt at genfinde næsten alt det tilsatte markør i gødningen (94 % for yttrium, 96 % for titanium og 99 % for celite). På baggrund af disse resultater blev det derfor vurderet relevant at medtage alle tre markører i de næste aktiviteter, hvor risiko for afblanding blev undersøgt og genfindingen af markørerne i gødning fra grise tildelt foder tilsat markører blev bestemt.

Vi har efterfølgende fundet ud af, at titanium ikke blev tilsat i form af titaniumdioxid, men i en flydende form. Formen for det tilsatte titanium har betydning for, om det kan genfindes i analysen. Derfor repræsenterer genfindingen for titanium ikke genfindingen af titanium tilsat i form af titanium dioxid (se aktivitet 3). Fejl i kommunikation er også årsagen til, at de tilsatte niveauer af yttrium og titanium var betydeligt lavere end planlagt.

Aktivitet 3: Afblanding af markører ved iblanding og transport af foder (Afp. 1891 – Ileum-1, Afp. 1917 – Ileum-2)

Markørtildeling kan gøres ved, at fordøjelighedsmarkører tilsættes hver enkelt portion foder udfodret til grisen eller ved at blande markørerne i en større mængde foder. Iblanding i større portioner har den fordel, at markørerne kun skal tilsættes en enkelt gang. Omvendt kan iblanding af markører i større portioner foder give risiko for tab af markører ifm. iblanding (støv) og afblanding af markørerne ved håndtering af foderet, herunder iblanding og transport af foder.

Formålet med denne aktivitet var derfor at undersøge afblanding af celite, yttrium, og titanium i foder ved at analysere markørindholdet:

- I foder udtaget 5 steder/punkter under udtagning af foder fra cementblander (5 punkter fra fuld til tom).
- I det øverste lag (ca. 10 cm af big bag) af foder efter transport af foder fra Teknologisk Institut i Sdr. Stenderup til Forsøgsstation Grønhøj.

3.1. Materiale og metode

Indhold af markører i foder under tømning af blander umiddelbart efter iblanding af markør

Denne del af aktivitet 3 blev udført ifm. afp. 1891 med formål at bestemme ileal fordøjelighed og basalt endogent tab af kvælstof og aminosyrer (se nedenfor).

Det blev undersøgt, om der er indikationer på, at markører, der blandes i foder med en cementblander, resulterer i en betydelig lagdeling af markørerne. Dette blev gennemført ved at afveje celite, yttriumoxid og titaniumdioxid og blande det i 20 kg standard slagtegrisefoderblanding (melfoder). Iblandede mængder er vist i **Tabel 5**. Foderblandingerne (20 kg) og markørerne blev blandet i 8 minutter i cementblander. Herefter blev der udtaget 5 foderprøver udtaget 5 forskellige steder fra start til slut i takt med, at foderet løb ud af cementblander. Prøve nr. 1 repræsenterer start (første prøve af de 20 kg) og prøve nr. 5 repræsenterer den sidste prøve (cementblander næsten tom). Foderprøver blev analyseret for indhold af yttrium (Y), celite (analyseres som syreuopløseligt aske), og titanium (Ti).

Tabel 5. Blanding af foder og fordøjelighedsmarkører.

	Per kg foder	Per 20 kg foder
Foder	1,00 Kg	20 Kg
Celite	10,000 g	200 Gram
Y ₂ O ₃ (yttrium oxid)	0,508 g (svarende til 0,4 g Y/kg)	10,2 Gram
TiO ₂ (titanium dioxid)	3,337 g (svarende til 2,0 g Ti/kg)	66,7 Gram

Indhold af markør i det øverste lag af foder efter transport i big bag (topprøve)

Denne del af aktivitet 3, hvor det blev undersøgt, om de iblandede markører falder ned gennem foderet (afblander) i betydelig grad under transport af foder i big bags, er blevet udført i forbindelse med en anden afprøvning (afp. 1917), hvor det primære formål var at bestemme basalt endogent tab af kvælstof (N-fri foderblanding) og ileal fordøjelighed af aminosyrer i 4 andre foderblandinger baseret på forskellige fodermidler (sojaskrå, hestebønner, rapsskrå, ærter - ikke beskrevet nærmere i dette notat).

Afblanding blev undersøgt ved at samle 1 prøve fra forskellige steder i de øverste ca. 10 cm af foderet fra hver af 5 big bags indeholdende 5 forskellige foderblandinger (N-fri, sojaskrå, hestebønne, rapsskrå, ærter). Prøverne blev udtaget efter transport fra Teknologisk Institut i Sdr. Stenderup til Forsøgsstation Grønhøj (en rute på 124 km). De 5 foderblandinger blev produceret til et ilealt fordøjelighedsforsøg. Foderblandingerne blev produceret af Teknologisk Institut pga. behov for høj blandesikkerhed og fordi der skulle iblandes fordøjelighedsmarkører, som ikke er godkendt til anvendelse i foder til grise til konsum. Foderprøverne blev analyseret for indhold af yttrium (Y) og celite (analyseres som syreuopløseligt aske).

De tilsatte niveauer til de 5 forskellige foderblandinger var:

- 10 g celite/kg foder (svarende til 10 g celite/kg foder)
- 0,508 g yttriumoxid/kg foder (svarende til 0,40 g yttrium /kg foder)

3.2. Resultater

Indhold af markører i foder under tømning af blander umiddelbart efter iblanding af markør

Indholdet af yttrium og celite (analyseres som syreuopløselig aske) og titanium er vist i **Figur 3** nedenfor.

Det gennemsnitlige analyserede indhold af yttrium (0,41 g Y/kg foder) stemte fint overens med det tilsatte niveau (0,40 g Y/kg foder), og der var ikke tydelige indikationer på store forskelle mellem prøver.

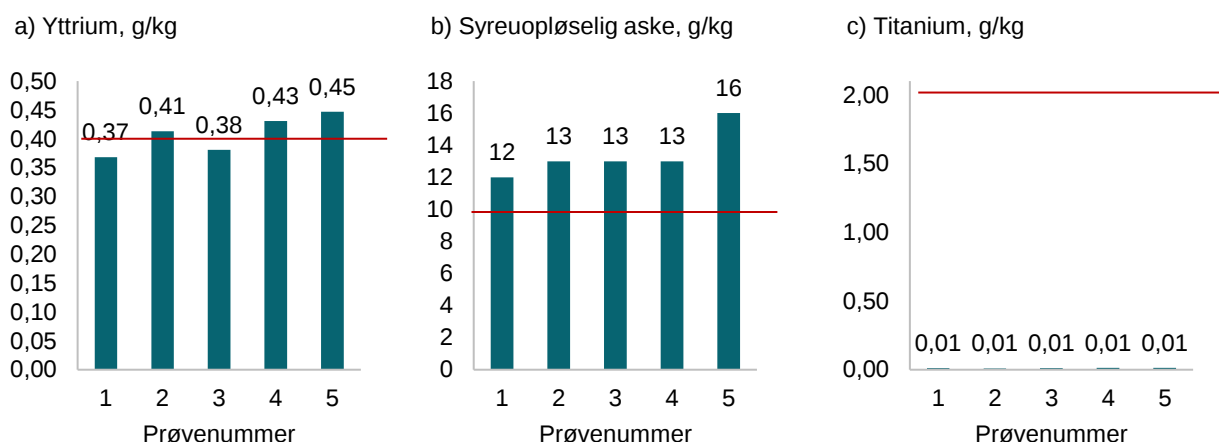
Det gennemsnitlige analyserede indhold af syreuopløselig aske (13,4 g/ kg foder) var 3,4 g/kg højere end det tilsatte niveau (10,0 g celite/kg foder). Denne forskel kan højst sandsynligt tilskrives et basalt indhold af syreuopløselig aske i foder. Til sammenligning har vi i andre aktiviteter målt et basalt indhold af syreuopløselig aske på:

- $4,0 \pm 0,0$ g syreuopløseligt aske/kg (Gennemsnit $\pm$ SD) analyseret i 5 prøver (aktivitet 1)
- $3,2 \pm 0,6$ g syreuopløseligt aske/kg (Gennemsnit $\pm$ SD) analyseret i 4 prøver (aktivitet 4)
- $2,3 \pm 0,0$ g syreuopløseligt aske/kg (Gennemsnit $\pm$ SD) analyseret i 4 prøver (aktivitet 4)

Som ved yttrium, var der ikke tydelige indikationer på store forskelle mellem prøver for celite – dog viste det analyserede indhold af prøve nr. 5 det højeste indhold.

Analyserne viste et titaniumindhold tæt på nul (0,01 g/kg foder) og dermed langt fra de tilsatte niveauer af titanium (2,0 g/kg foder). Dette skyldes, at den anvendte kemiske analyse til måling af titanium, ikke var i

stand til at måle titanium i form af titaniumdioxid. Vi fandt ved samme lejlighed ud af, at den type af titanium, der blev tilsat i Eurofins spikeforsøg af gødning (Aktivitet 2) ikke var titaniumdioxid (TiO_2), men titanium i en opløselig form, hvilket er forklaring på, at Eurofins kunne måle titanium i Aktivitet 2, men ikke her i Aktivitet 3.



Figur 3. Indhold af a) yttrium, b) celite (analyseres som syreuopløselig aske) og c) titanium i foderprøver udtaget efter 8 minutters blanding i cementblander. Prøvenummer 1 er først udtagede prøve fra cementblander og prøve nummer 5 repræsenterer sidst udtaget prøver (tom blander). Den røde linje indikerer den tilsatte mængde markør (afvejet).

Indhold af markør i det øverste lag af foder efter transport i big bag (Topprøve)

De tilsatte mængder af celite og yttrium (i form af yttriumoxid, Y_2O_3) og det analyserede indhold af celite (analyseres som syreuopløselig aske) og yttrium (Y) er vist **Tabel 6**.

Det gennemsnitlige analyserede indhold af yttrium (0,40 g/kg foder) stemte fuldstændig overens med det tilsatte niveau (0,40 g/kg foder). Det gennemsnitlige analyserede indhold af syreuopløselig aske (14 g/kg foder) var 4,0 g/kg højere end det tilsatte niveau (10 g/kg foder). Denne forskel skyldes højst sandsynligt, som beskrevet ovenfor, at der vil være et basalt indhold af syreuopløselig aske i alle traditionelle foderblandinger.

Tabel 6. Tilsat mængde celite og yttrium (g/kg foder) og analyseret indhold af celite og yttrium i 5 prøver udtaget fra de øverste 10 cm af big bag. Celite analyseres som syreuopløselig aske. Gns. $\pm$ SD.

	Tilsat g/kg foder	Analyseret indhold g/kg foder $\pm$ SD
Yttrium (Y)	0,40	0,40 $\pm$ 0,007
Celite ¹	10	14 $\pm$ 1,9
Tørstof	-	906 $\pm$ 16,5

¹ Celite analyseres som syreuopløseligt aske og inkluderer derfor både tilsat celite og basalt indhold af syreuopløselig aske.

3.3 Delkonklusion

På baggrund af analyser af prøver udtaget fra cementblander og prøver af det øverste lag foder i big bags efter transport, er der ikke indikationer på, at markørerne afblander efter iblanding og transport.

Analyserne viste, at Eurofins ikke kan analysere titanium tilsat som titaniumdioxid til foderet. Den type af titanium, der blev tilsat i Eurofins spikeforsøg af gødning (Aktivitet 2) var af en anden type (flydende form) end den anvendte til fordøjelighedsforsøg (fast form). Derfor blev der ikke analyseret for titanium i foder, ileum-indhold og gødning i de efterfølgende aktiviteter (Aktivitet 3 - afp. 1814 og Aktivitet 5 afp. 1891).

Aktivitet 4: Markører tilsat foder – genfinding i gødning samt fordøjelighed bestemt med markør vs. total opsamling (Afp. nr. 1814 – Fækal-1)

Indledningsvis blev der udviklet og fremstillet en prototype af ét balancebur til særskilt opsamling af gødning og urin. Buret blev bygget i stål og el-galvaniseret, da dette var betydelig billigere end rustfrit stål og da forventningen var, at der ville være behov for tilpasninger af buret efter afprøvning af det. Balanceburet blev designet til opstaldning af én gris ad gangen i vægt intervallet 25-110 kg med mulighed for at indsnævre siderne på buret, så grisen ikke kunne vende sig. Dette har traditionelt været normal praksis for denne type balanceforsøg. Efter en indledende test, var der dog bred enighed i teamet om, at det velfærdsmæssigt vil være at fortrække, at grisen kan gå frit rundt i buret. I nærværende test var grisene derfor fritgående i buret i hele testperioden.

For at teste balanceburet og påbegynde etablering af forsøgsprocedurer til fækal fordøjelighedsbestemmelse samt vurdere kvaliteten af forskellige fordøjelighedsmarkører blev nærværende aktivitet gennemført med de formål at:

- Teste funktionaliteten af prototype balanceburet og identificere nødvendige tilpasninger af buret.
- Påbegynde opbygningen af forsøgsprocedurer til fækal fordøjelighedsbestemmelse, som fortsættes i 2024.
- Bestemme hvor stor en andel af mængden af titanium, celite og yttrium tilsat en given mængde foder (måltid), som efterfølgende genfindes i gødningen vha. total opsamling af gødning i prototype balancebur.
- Sammenligne fordøjeligheder af næringsstoffer for en traditionel slagtegriseblanding, som bestemmes ved hhv. "total opsamling" af gødning i balancebur og "spot opsamling" (på engelsk: grab sampling) vha. fordøjelighedsmarkører (celite, yttrium) tilsat foderet.

4.1. Materiale og metode

Opstaldning

I forsøget indgik i alt 7 grise, som hver især blev opstaldet individuelt i et balancebur i en periode på 11 dage (dag 0-10) – i alt 7 perioder. Én af de 7 grise udgik af forsøget på første dag i opsamlingsperioden grundet lav foderoptagelse (periode 4 af 7). De 6 grise, der gennemførte forsøget, havde en startvægt på 36,0 kg ± 0,6 kg og en slutvægt på 40,8 kg ± 1,0 kg.

Grisene blev opstaldet individuelt i 11 dage (dag 0-10) i det fremstillede balancebur (prototype) med særskilt opsamling af gødning og urin. Oversigt over forsøgsprocedure er vist i **Tabel 7**. I de første 5½ dage blev grisene vænnet til foderet og til at opholde sig i balanceburet (Tilvænningsperiode). Herefter blev alt gødning og urin opsamlet over en periode på 4 foderdage (Prøveopsamlingsperiode). Denne opsamling tager i praksis ca. 5½ dag, da foderet skal passere mave-tarmkanalen inden den tilsvarende gødning kan opsamles.

Foder, foderstyrke og fordøjelighedsmarkører

De første 4 grise blev tildelt en slagtegriseblanding (melfoder) fra Søren Thun Kristiansen (ST). Efter gennemførelse af forsøg med de første 4 grise, blev der taget 1 gris ud af forsøget pga. lav ædelyst. Der var mistanke om, at foderet (ST) var årsagen til lavt foderoptag. Derfor blev de to resterende grise tildelt en slagtegriseblanding fra Danish Agro (DA). Denne blanding (DA) var oprindeligt pelleteret, men blev efterfølgende formålet til melfoder, for at kunne iblande markører.

Grisene blev fodret kl. 08 og kl. 14 i hele forsøgsperioden (dag 0 til dag 10) med en standard foderblanding til slagtegrise. Ved hver fodring blev tildelt 750 g foder (1,50 kg/dag). Dette svarede til omkring 90 % af det forventede ad libitum foderindtag for en gris på 36 kg. Der blev anvendt samme foderstyrke gennem hele forsøgsperioden (dag 0 til 10). Grisene blev fodret semi ad libitum for at undgå foderrester.

Ved hver fodring blev fordøjelighedsmarkørerne titaniumdioxid, yttriumoxid og celite iblandet manuelt til foderet.

Til hver foderration på 750 g iblandes:

- 7,500 g celite – celite (10 g celite pr. kg foder)
 - 0,380 g Y_2O_3 - yttriumoxid (0,508 g Y_2O_3 pr. kg foder, svarende til 0,4 g yttrium pr. kg foder)
 - 0,250 g TiO_2 – titaniumdioxid (0,337 g TiO_2 pr. kg foder, svarende til 0,2 g titanium pr. kg foder).
- (Ti-markøren blev tilsat men ikke analyseret pga. manglende mulighed for analyse – se aktivitet 3).*

Markørerne blev blandet manuelt i hver enkelt foderration. Markørerne blev iblandet hele foderrationen, for at få markørerne fordelt jævnt i tarmen.

Ved udfodring blev foderet blandet med vand, så foderet fremstod som en tyk grød. Dette blev gjort for at binde de iblandede markører til foderet og dermed undgå, at markørerne blev tabt via støv. Grisens eksakte foderindtag og foderrester blev registreret både i tilvænnings- og i prøveopsamlingsperioden. Eventuelle foderrester samles op, vejes og registreres efter ca. en halv time efter hver fodring. Der blev lavet tørstofbestemmelse på den samlede mængde af foderrester fra prøveopsamlingsperioden.

Forsøgsproceduren er beskrevet nedenfor og illustreret i **Tabel 7**.

Gødningsoptag og farvemærker

I prøveopsamlingsperioden blev alt gødning opsamlet i en periode på 4 foderdage. For at kunne identificere det gødning, som stammer fra de 4 foderdage, blev opsamlingsperioden igangsat på dag 5 (søndag kl. 14) ved at tilsætte farvemærker til hele foderrationen. Opsamlingsperioden blev afsluttet på samme måde, ved at tilsætte farvemærker på dag 9 (torsdag kl. 14). Der blev anvendt 7,5 g farvemærker (Indigo carmine, Cas nr 860-22-0) pr. foderration til begge dage (både igangsætning og afslutning), svarende til 10 g/kg foder.

Opsamling af gødning ifm. igangsætning af opsamlingsperiode foregik ved, at det udelukkende var farvet gødning, som blev opsamlet på dag 6 (indtil den farvede foderration havde passeret tarmkanalen). Det skyldes, at farven (indigo carmine), som blev iblandet foderet på dag 5 (igangsætning), udskilles i gødningen i løbet af dag 6 (mandag). Den farvede gødning på dag 6 stammede således fra eftermiddagsfodringen dagen forinden, mens den ikke-farvede gødning var fra tidligere foderrationer.

Opsamling af gødning ifm. afslutning af opsamlingsperioden foregik ved, at det udelukkende var IKKE-farvet gødning, som blev opsamlet på dag 10. Den farve (Indigo Carmine), som blev iblandet foderet på dag 9 (afslutning), udskilles i løbet af dag 10 (fredag). Den farvede gødning stammede fra foder tildelt efter opsamlingsperioden og blev derfor ikke opsamlet. Prøveopsamlingsperioden blev afsluttet, når farven fremkom i gødningen. Herefter blev grisen taget ned fra balanceburet og vejlet.

Udover opsamlingen af alt gødning i opsamlingsperioden, blev der udtaget en gødningsprøve (spot-opsamling) for at undersøge, om fordøjelighedsmarkørerne er ensartet fordelt gennem tarmsystemet. Der var behov for 300 g gødning til denne prøve. Der blev udtaget 2 spot-opsamlinger for hver gris. Den første blev udtaget om søndagen (dag 5) forud for prøveopsamlingsperioden. Den anden blev udtaget om fredagen efter opsamling (dag 10). Disse to spotprøver blev poollet efterfølgende til en prøve.

Balanceburet blev rengjort i forbindelse med igangsætning af prøveopsamlingsperioden på dag 5 ved at skrab buret og rengøre opsamlingsbakker. I opsamlingsperioden blev alt gødning opsamlet 2 gange dagligt (formiddag og eftermiddag på dag 6 til 10).

Urinopsamling

I prøveopsamlingsperioden blev alt urin opsamlet i en periode over 4 foderdage. Urin bliver produceret løbende, og det er derfor ikke muligt at koble urinproduktionen til specifikke fodringstider. I stedet blev alt urinen opsamlet fra mandag morgen til fredag morgen (4 døgn) i spande opsat under balanceburet.

Tabel 7. Oversigt over forsøgsproceduren for hver gris.

Periode	Uge-dag	Dag	Kl.	Veje gris ¹	Fodring ²	Farve-markør ³	Gødning		Urin ⁸
							Spot opsamling ⁴	Total opsamling	
Tilvænnings-periode	Tir	0	08:00 14:00	X	X X				
	Ons	1	08:00 14:00		X X				
	Tor	2	08:00 14:00		X X				
	Fre	3	08:00 14:00		X X				
	Lør	4	08:00 14:00		X X				
	Søn	5	08:00		X				
Prøve-opsamlings-periode			14:00		X	X	X	Skrab sti	
	Man	6	08:00 14:00		X X			X ⁵ X ^{5,6}	Ny spand
	Tir	7	08:00 14:00		X X			X ⁶ X ⁶	X
	Ons	8	08:00 14:00		X X			X ⁶ X ⁶	X
	Tor	9	08:00 14:00		X X	X		X ⁶ X ⁶	X
	Fre	10	08:00 14:00	X	X X		X	X ⁷ X ⁷	X

¹ Grisen blev vejlet ved indsættelse i balanceburet og ved nedtagning fra balanceburet.

² Grisen blev fodret 90 % af forventet ad libitum indtag beregnet ud fra vægt og fodersammensætning.

³ Der blev tilsat farvestof til foderet søndag eftermiddag og 4 døgn senere.

⁴ Der blev udtaget én gødningsprøve forud for totalopsamlingen (dag 5) og én prøve efter totalopsamlingen (dag 10). Minimum 300 g gødning/prøve.

⁵ **Farvet** gødning blev opsamlet, vejlet og opbevaret på frost.

⁶ Alt gødning blev opsamlet, vejlet og opbevaret på frost.

⁷ Den **ikke-farvede** gødning blev opsamlet, vejlet og opbevaret på frost. Totalopsamling blev afsluttet ved fremkomst af farve.

⁸ Urin blev opsamlet i 4 døgn (vejlet og opbevaret på frost).

Prøvehåndtering

Foder

Foderprøver blev udtaget i forbindelse med udvejning af foder. Ved hver udvejning af en foderration blev samme mængde udtaget, som bidrag til en samleprøve for hver gris. Samleprøven blev neddelte til 4 identiske prøver. Der blev gennemført kemiske analyser af 1 prøve pr. gris fodret med ST blandingen (n= 4) og 2 prøver pr. gris fodret med DA blandingen (n=4). Foderprøver blev opbevaret på frost ved -20°C.

Gødning (totalopsamling og spot-opsamling)

Ved total opsamling af gødning, blev de daglige opsamlinger samlet i én stor samleprøve for hver gris (n=6). Alt opsamlet gødning blev vejlet dagligt og opbevaret på frost ved -20°C. De to spot-opsamlinger opsamlet forud for og efter totalopsamlingen blev ligeledes poolet til en samleprøve. Inden samleprøverne blev sendt til analyse, blev de optøet ved stuetemperatur og fordelt i et jævnt og tyndt lag i en foliebakke. Hele prøven blev tørret ved 65°C indtil prøvens vægt var stabil. Hvis muligt, blev prøverne "omrørt" dagligt for at sikre jævn tørring. Hele den tørrede prøve blev formalet i indkøbt kværn (mazzar major). Hver formalet prøve blev neddelte til 2 prøver, hvoraf den ene blev gemt, og den anden sendt til analyse hos Eurofins.

Urin

Der blev tilsat 25 mL saltsyre (6N) i spande forud for opsamling af urin, for at sikre lavt pH og dermed minimere ammoniakfordampning (tab af kvælstof). Under opsamlingen blev et mælkefilter placeret ved udløbet fra balancebures urinopsamlingsplade for at frafiltrere eventuelle organiske rester (fra foder eller gødning). Ved totalopsamling af urin, blev de daglige opsamlinger samlet i en stor samleprøve for hver gris. Urinprøver blev opbevaret på frost ved -20°C. Inden samleprøven blev sendt til analyse, blev den optøet ved stuetemperatur. Den optøede samleprøve blev omrørt grundigt, og der blev udtaget en repræsentativ prøve, som blev sendt til analyse hos Eurofins.

Beregning af fordøjeligheder

Tilsyneladende fordøjelighed (ATTD, %) ved totalopsamling blev beregnet som følger, hvor X repræsenterer tørstof, organisk stof, aske, fedt, calcium eller fosfor:

$$ATTD_{total} \text{ af } X, \% = \frac{\text{Indtag af } X_{foder}, \frac{g}{dag} - \text{Output af } X_{gødning}, \frac{g}{dag}}{\text{Indtag af } X_{foder}, \frac{g}{dag}} \times 100$$

Tilsyneladende fordøjelighed (ATTD, %) ved brug af markør (yttrium eller celite) blev beregnet som følger for tørstof (TS):

$$ATTD_{markør} \text{ af } TS, \% = \left(1 - \frac{\text{markør}_{foder}, \frac{g}{kg} TS}{\text{markør}_{gødning}, \frac{g}{kg} TS} \right) \times 100$$

Tilsyneladende fordøjelighed (ATTD, %) ved brug af markør (yttrium eller celite) blev beregnet som følger, hvor X repræsenterer, organisk stof, aske, fedt, calcium eller fosfor:

$$ATTD_{markør} \text{ af } X, \% = \left(1 - \frac{X_{gødning}, \frac{g}{kg} TS}{X_{foder}, \frac{g}{kg} TS} \times \frac{\text{markør}_{foder}, \frac{g}{kg} TS}{\text{markør}_{gødning}, \frac{g}{kg} TS} \right) \times 100$$

4.2. Resultater

I begge foderblandinger (ikke tilsat markør) blev der detekteret celite, men ikke yttrium.

Kvantifikationsgrænsen for yttrium for Eurofins analyser er 1 mg/kg foder. Til sammenligning blev der i tidligere indsendte prøver fundet et basalt indhold på 10,9 mg yttrium/kg foder i standard foderblandinger. Årsagen til, at der ikke blev fundet yttrium i disse prøver kan være, at yttriumindholdet var under de 1 mg/kg. Det vil dog ikke have nogen praktisk betydning i forsøg, hvor markørerne iblandes foderet og det samlede indhold analyseres (basalt indhold + tilsat markør). Proteinindholdet var betydelig højere i blanding DA sammenlignet med ST.

Tabel 8. Analyseret kemisk sammensætning af blanding ST og DA uden tilsætning af celite, yttrium og titanium. Gns.

		Foderblanding			
		ST (4 grise)		DA (2 grise)	
		Analyseret	Forventet	Analyseret	Forventet
Analyserede prøver	n	4	-	4	-
Tørstof (TS)	g/kg	867	860	863	865
Aske	g/kg TS	59	67	52	59
Protein	g/kg TS	154	169	183	180
Fedt	g/kg TS	34	35	34	40
FESv	FESv/kg TS	1,25	1,24	1,24	1,23
Calcium (Ca)	g/kg TS	10,0	8,5	8,6	8,2
Fosfor (P)	g/kg TS	6,6	6,7	5,8	5,5
Fordøjeligt P ¹	g/kg TS	-	3,7	-	2,0
P fordøjelighed	%	-	55	-	36
Celite ²	g/kg TS	3,2	-	2,3	-
Yttrium (Y) ³	g/kg TS	ND ²	-	ND ²	-
Titanium (Ti) ⁴	g/kg TS	Ikke analyseret ³	-	Ikke analyseret ³	-

¹ Fordøjeligt fosfor er baseret på, at der var 100 % fytase i ST blandingen og 0 % fytase i DA blandingen.

² Basalt indhold i foderblanding (ikke tilsat).

³ Under detektionsgrænse.

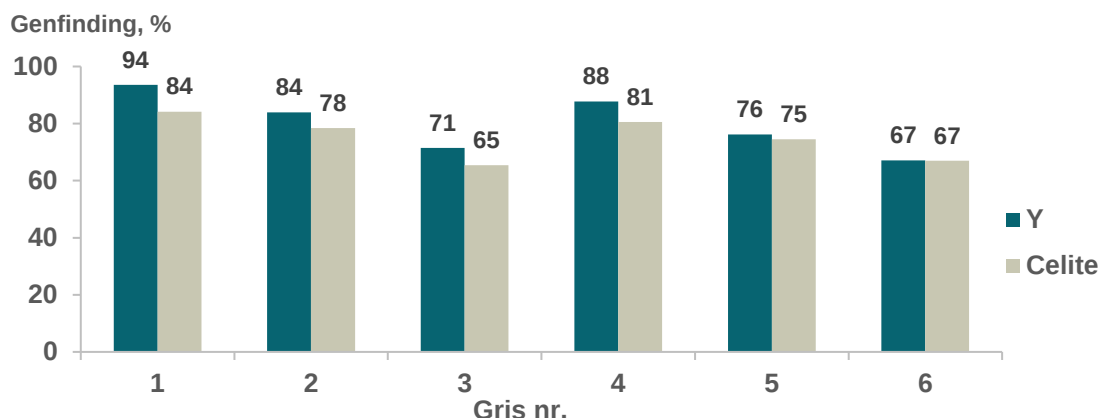
⁴ Ikke analyseret, da Eurofins analyse ikke kan detektere titanium tilsat som titaniumdioxid.

Genfinding af fodertilsatte markører i gødningen

Genfindingen i gødning af markør tilsat foderet var 80 % for yttrium og 75 % for celite (**Tabel 9**). Blandt de 6 grise varierede genfindingen fra 65 til 84 % for celite og fra 67 til 94 % for yttrium (**Figur 4**). Tre af de i alt 6 grise havde foderrester på i alt 466, 378 og 367 g tørstof.

Tabel 9. Genfinding af yttrium og celite (analyseres som syreuopløselig aske) i gødning fra grise tildelt foder tilsat markørerne. Gns. ± SD.

Markør	N	Genfinding, %
Yttrium	6	80,0 ± 10,1
Celite	6	75,0 ± 7,5



Figur 4. Individuel genfinding af yttrium (Y) og celite (celite analyseres som syreopløseligt aske) i gødning fra 6 grise tildelt foder tilsat disse markører.

Fordøjelighed bestemt ved "totalopsamling" og "spot-opsamling" vha. fordøjelighedsmarkører tilsat foderet

Fordøjeligheder af næringsstoffer bestemt ved totalopsamling vha. markører målt i totalt opsamlet gødning og spotprøver af gødning er vist i **Tabel 10**. Standardafvigelserne for fordøjelighederne er vist i **Tabel 11**. Fordøjelighederne er et rå gennemsnit af de bestemte fordøjeligheder for de 6 grise, hvoraf 4 fik ST blandingen og 2 fik DA blandingen. Fordøjelighederne bestemt med forskellige metoder kan sammenlignes direkte, hvorimod de absolutte fordøjelighedsværdier afspejler begge foderblandinger med henholdsvis 4 og 2 bestemmelser af hvert næringsstof for ST og DA blandingen.

Fordøjeligheder af næringsstoffer bestemt ved totalopsamling ligger betydelig højere sammenlignet med tilsvarende fordøjeligheder bestemt vha. markører. For at opnå en nøjagtig bestemmelse af fordøjeligheder vha. total opsamling, er det afgørende, at alle foderrester og alt gødning opsamles og registreres, og dermed undgå overestimering af fordøjeligheden. Den relativt lave genfinding af markørerne (75 % for celite og 80 % for yttrium) kan måske forklare, at fordøjeligheder bestemt ved totalopsamling ligger på et højere niveau end fordøjeligheder bestemt med markører.

Der var relativ god overensstemmelse mellem fordøjelighedsværdier af næringsstoffer bestemt ved hjælp af hhv. yttrium og celite analyseret i gødning fra "totalopsamling" (dvs. stor gødningsmængde) sammenlignet med fordøjeligheder bestemt i gødning fra "spot-opsamling" (lille gødningsmængde). Dette viser, at begge markører er homogent fordelt i gødningen, og at de to udtagne spotprøver udgør en repræsentativ prøve af gødningen. Generelt ligger fordøjelighederne af næringsstofferne højere, når yttrium bruges som markør sammenlignet med celite (**Tabel 10**).

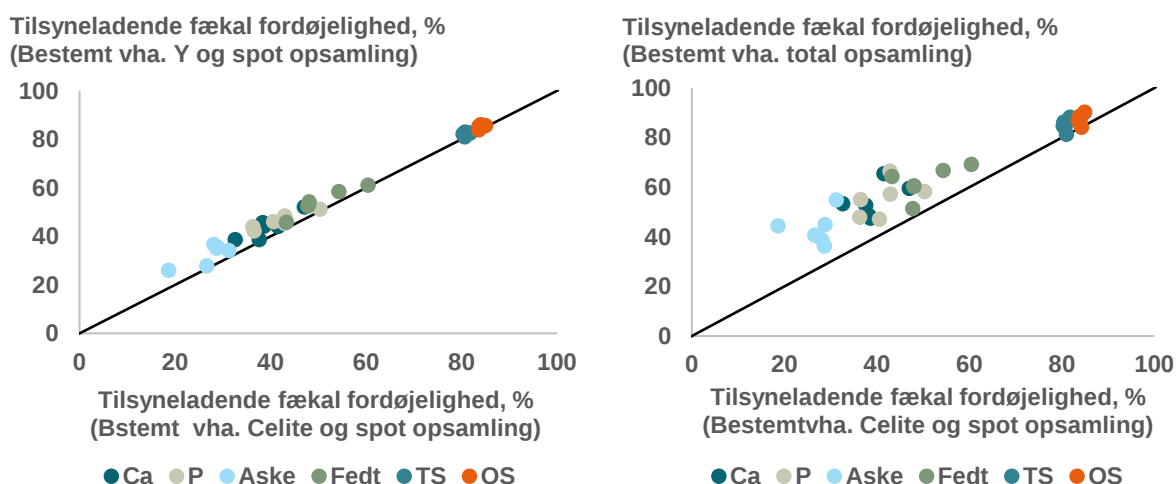
Tabel 10. Tilsyneladende fordøjelighed (%) af tørstof (TS), organisk stof (OS), aske, fedt, fosfor (P), og calcium (Ca) for foder (gennemsnit af ST foder [4 grise] og DA foder [2 grise]) bestemt ved totalopsamling og ved brug af markører (yttrium og celite) målt i total opsamlet gødning eller spotprøver.

Bestemmelsesmetode	Gødningsprøve	TS	OS	Aske	Fedt	P	Ca
Totalopsamling	Totalopsamling	85	87	43	62	55	54
Yttrium	Totalopsamling	82	84	29	53	44	43
Yttrium	Spotprøve	83	85	33	54	46	44
Celite	Totalopsamling	81	83	24	49	41	39
Celite	Spotprøve	82	84	27	50	42	39

Tabel 11. Standardafvigelse af tilsyneladende fordøjelighed (%) af tørstof (TS), organisk stof (OS), aske, fedt, fosfor (P) og calcium (Ca) for foder (gennemsnit af ST foder [4 grise] og DA foder [2 grise]) bestemt ved totalopsamling og ved brug af markører (yttrium og celite) målt i totalopsamlet gødning eller spotprøver.

Bestemmelsesmetode	Gødningsprøve	TS	OS	Aske	Fedt	P	Ca
Totalopsamling	Totalopsamling	2,3	2,0	6,6	6,3	7,2	6,9
Yttrium	Totalopsamling	2,3	2,1	7,9	5,5	7,1	8,3
Yttrium	Spotprøve	0,7	0,7	4,5	5,3	3,2	5,0
Celite	Totalopsamling	2,0	1,9	5,7	6,5	6,4	7,1
Celite	Spotprøve	0,6	0,5	4,4	6,1	5,2	4,8

Der er relativ god overensstemmelse mellem fordøjelighedsværdier af næringsstoffer bestemt vha. yttrium sammenlignet med fordøjeligheder bestemt med celite i spot-opsamling (**Figur 5a**). Sammenhængen mellem fordøjelighedsværdier bestemt vha. spot-opsamling med celite som markør sammenlignet med fordøjeligheder bestemt med totalopsamling er mindre god (**Figur 5b**). Sammenhængen mellem fordøjelighedsværdier bestemt vha. spot-opsamling med yttrium som markør sammenlignet med fordøjeligheder bestemt med totalopsamling er næsten identisk med **Figur 5b** og er derfor ikke vist. Der blev målt tørstofindhold i spotprøven af gødning, men ikke i total opsamlet gødning. Derfor er der for hver gris antaget, at tørstofværdier for totalopsamlet gødning er den samme som for spotprøven. Dette antages at være en pålidelig antagelse på tværs af datasættet, men for bestemmelsen af fordøjelighed for de enkelte grise, vil det højst sandsynlig have bidraget til en øget usikkerhed.



Figur 5. a) Sammenhæng mellem fordøjeligheder bestemt med celite (celite analyseres som syreopløselig aske) og fordøjeligheder bestemt med yttrium (begge vha. spotprøver) samt b) sammenhæng mellem fordøjeligheder bestemt med celite i spotprøve (celite analyseres som syreopløselig aske) og fordøjeligheder bestemt ved totalopsamling. Ca er calcium, P er fosfor, TS er tørstof, og OS er organisk stof.

4.3. Delkonklusion

Genfindning af markører fra foder til gødning lå på 75 % for celite og 80 % for yttrium, hvilket ikke er et tilfredsstillende niveau. Der skal derfor fokus på videreudvikling af balanceburenes udformning for mere præcis opsamling af foderrester og gødning, for at opnå et tilfredsstillende niveau (omkring 90 %), hvis totalopsamling skal være foretrukne metode til bestemmelse af fækale fordøjeligheder. For at opnå en nøjagtig bestemmelse af fordøjeligheder vha. totalopsamling, er det afgørende, at alle foderrester og alt gødning opsamles og registreres for at undgå overestimering af fordøjeligheden. Den lave genfindingsprocent kunne tyde på en for lav gødningsopsamling og kan formentlig forklare, at fordøjeligheder af næringsstoffer bestemt ved totalopsamling ligger betydelig højere sammenlignet med tilsvarende fordøjeligheder bestemt vha. markører. Fordøjelighed bestemt med markører ser umiddelbart tilfredsstillende ud.

Der er etableret foreløbige arbejdsprocedurer til bestemmelse af fækale fordøjeligheder, men der er behov for yderligere test og implementering af procedurer i 2024. På baggrund af resultaterne, herunder, at spotprøver udgør en repræsentativ prøve, anvendes begge markører i aktivitet 5 med bestemmelse af ileale fordøjeligheder.

Aktivitet 5: Bestemmelse af ileal fordøjelighed og basalt endogent tab af protein og aminosyrer (Afp. nr. 1891 - Ileum-1)

Sidste step i rækken af aktiviteter for 2023 var at etablere og afprøve alle procedurer vedrørende bestemmelse af ileale fordøjeligheder. Derfor blev nærværende forsøg gennemført, med det formål at:

- Etablere forsøgsprocedurer til bestemmelse af ileale fordøjeligheder
- Bestemme basalt endogent tab af protein og aminosyrer
- Bestemme standardiserede ileale fordøjeligheder (og spredning) af protein og aminosyrer
- Bestemme passagehastighed af foder fra fodring til fremkomst ved ileum
- Bestemme mængde af opsamlet ileum-indhold over to prøveopsamlingsdage.

5.1. Materiale og metode

Foder og fodring

Til forsøget blev der anvendt to foderblandinger – en standard foderblanding til slagtegrise (**STD**) og en kvælstoffri foderblanding (**N-Fri**) for bestemmelse af det endogene tab af protein og aminosyrer – begge som melfoder. Foderets indhold i standard blanding og den kvælstof-frie blanding (N-Fri) er vist i **Tabel 12**.

Tabel 12. Indhold i standard foderblanding til slagtegrise (STD) og kvælstof og proteinfri blanding (N-Fri).

STD		N-Fri	
Fodermiddel	g/kg	Fodermiddel	g/kg
Byg	420,0	Majsstivelse	680,7
Hvede	369,6	Sukker	200,0
Sojaskråfoder	120,4	Cellulosepulver	40,0
Vegetabilsk olie palme/PFAD	5,0	Sojaolie	40,0
Fodersalt	5,1	Fodersalt	4,0
Foderkridt	13,0	Foderkridt	5,0
Monocalciumfosfat	2,4	Monocalciumfosfat	24,0
Vitaminer og mikromineraler	2,0	Vitaminer og mikromineraler	2,0
Axtra Phy 1250 fytase	0,72	Kaliumchlorid	4,3
Lysinsulfat (70%)	4,12		
DL-Methionin	0,45		
L-Threonin	1,11		
Tryptofan (50%)	0,02		
Havreskalmel	56,2		

Fordøjelighedsmarkørerne celite, yttriumoxid og titaniumdioxid blev blandet i de 2 foderblandinger. Markørerne blev manuelt afvejet for at opnå et indhold på 10 g celite/kg foder, 0,508 yttriumoxid/kg foder (0,4 g Y/kg) og 3,337 g titaniumdioxid/kg foder (2,0 g Ti/kg). Markørerne blev iblandet ved hjælp af cementblander i portioner af 20 kg. Risikoen for afblanding ifm. iblanding af markører er beskrevet ovenfor (Aktivitet 3).

Grisene blev fodret kl. 08 og kl. 14 gennem hele perioden. Ved udfodring blev der fodret med vand i blandingsforhold 1 L vand/fodring ved STD foderblandingen og 0,5 L vand/fodring ved den N-Fri

blanding. Der blev anvendt mere vand i STD blandingen (melfoder) end den N-Fri blanding, da melfoder suger mere vand end den N-Fri blanding, som indeholder høj andel majsstivelse.

Grisene blev fodret i forhold til deres vægt på operationsdagen, som var $38,9 \text{ kg} \pm 2,3 \text{ kg}$. Den anvendte foderstyrke er vist i **Appendiks 2**. Grisenes vægt ved afslutningen på forsøget var $43,5 \text{ kg} \pm 8,3 \text{ kg}$.

Indsættelse af T-cannula

I alt 9 grise med en vægt på $38,9 \text{ kg} \pm 2,3 \text{ kg}$ fik indopereret en T-cannula i den bagerste del af ileum. Grisene blev indsat i fordøjelighedsfaciliteterne 5 dage forud for operationen, hvor de blev opstaldet individuelt i stier og måltidsfodret. Efter operationen, fik grisene en uges tid til at komme sig (ophelingsperiode), hvorefter forsøgsperioden blev igangsat. I ophelingsperioden blev grisene plejet, medicineret og overvåget for at sikre, at grisene kom sig hurtigst muligt. En af de 9 grise kom aldrig op på fuldt foderoptag og derfor indgik i alt 8 grise i forsøget.

Forsøgsdesign og prøveopsamling

Forsøget blev gennemført som et overkrydsningsforsøg med to forsøgsperioder af en uges varighed. De 8 grise blev delt i to grupper, hvor 4 grise fik tildelt STD blandingen og 4 grise fik N-Fri blanding i den første periode og modsat den anden periode.

I hver af de to forsøgsperioder fik grisene forsøgsfoder (STD eller N-Fri) i 7 dage. De første 5 dage af forsøgsperioden havde til formål at vænne grisen og dens mave-tarmkanal til forsøgsfoderet (tilvænningsperiode), mens der i de 2 sidste dage af forsøgsperioden blev opsamlet ileum-indhold (opsamlingsperiode). På hver af de to opsamlingsdage, blev der opsamlet ileum-indhold over en periode på 9,5 timer. Det opsamlede ileum-indhold fra de 2 dage repræsenterede én prøve for den foderblanding, som grisen blev tildelt (gentagelse). Der blev gennemført 8 gentagelser for STD-blanding. For den N-Fri blanding, blev der gennemført 7 af de 8 planlagte gentagelser da en gris i den N-Fri gruppe havde lavt foderoptag på en opsamlingsdag, og dermed var der ikke tilstrækkeligt med ileum-indhold at samle op.

På opsamlingsdage blev der påsat opsamlingsposer (6 x 25 cm) på T-cannulaen ved hjælp af strips, så ileum-indhold opsamles i posen. Poserne blev skiftet hver halve time, og posens indhold blev vejede og sat på frost (-20°C) indtil det blev sendt til analyse. På alle opsamlingsdage blev der blandet farve i grisenes morgenration af foder (Indigo carmine), og tidspunktet ved fremkomst af farvet ileum-indhold i opsamlingsposen blev noteret for at bestemme foderets passagehastighed/opholdstid fra mund til ileum.

Beregning af basalt endogent tab og fordøjeligheder

For de grise, der fik N-Frit foder, blev det basale endogene tab af protein og aminosyrer ved ileum (g/kg tørstof [TS]) blev beregnet ud fra koncentrationen af markør (yttrium eller celit) i foder (markør_{foder}) og ileum-indhold (markør_{ileum}) samt koncentrationen af protein eller aminosyrer (X_{ileum}) i ileumindhold:

$$\text{Bas. end. tab af } X, \frac{\text{g}}{\text{kg}} \text{ TS} = X_{\text{ileum}}, \frac{\text{g}}{\text{kg}} \text{ TS} \times \frac{\text{markør}_{\text{foder}}, \frac{\text{g}}{\text{kg}} \text{ TS}}{\text{markør}_{\text{ileum}}, \frac{\text{g}}{\text{kg}} \text{ TS}}$$

For de grise, der fik tildelt STD foder blev de tilsyneladende ileale fordøjeligheder (AID, %) af protein og aminosyrer blev beregnet ud fra koncentrationen af markør (yttrium eller celit) i foder ($\text{markør}_{\text{foder}}$, g/kg TS) og ileumindhold ($\text{markør}_{\text{ileum}}$, g/kg TS) samt koncentrationen af protein eller aminosyrer i foder (X_{foder} , g/kg TS) og ileumindhold (X_{ileum} , g/kg TS):

$$AID \text{ af } X, \% = \left(1 - \frac{X_{\text{ileum}}, \frac{g}{kg} TS}{X_{\text{foder}}, \frac{g}{kg} TS} \times \frac{\text{markør}_{\text{foder}}, \frac{g}{kg} TS}{\text{markør}_{\text{ileum}}, \frac{g}{kg} TS} \right) \times 100$$

Standardiserede ileale fordøjeligheder (SID, %) af protein og aminosyrer blev beregnet ud fra det basale endogene tab (Bas. End. Tab af X, g/kg TS), tilsyneladende fordøjelighed (g/kg TS) og indholdet i foder for protein eller aminosyre (X_{foder} , g/kg TS):

$$SID \text{ af } X, \% = AID \text{ af } X, \% + \frac{\text{Bas. end. tab af } X, \frac{g}{kg TS}}{X_{\text{foder}}, \frac{g}{kg} TS} \times 100$$

Som i de andre ligninger repræsenterer X protein eller individuelle aminosyrer. Det Bas. End. Tab af og AID er bestemt vha. yttrium eller celit som markør.

5.2. Resultater

Foderblandingerne analyserede indhold af næringsstoffer og markører er vist i **Tabel 13**.

Tabel 13. Analyseret kemisk sammensætning af den N-Fri blanding og standard-blandingen (STD) tilsat celite, yttrium og titanium. Gns. $\pm$ SD.

	N-fri		STD	
	Gns.	SD	Gns.	SD
Antal observationer	5	-	5	-
Tørstof (TS), %	91,4	0,05	87,2	0,08
Aske, g/kg TS	54	2,2	61	1,8
Protein, g/kg TS	4,8	0,60	140,8	1,22
Fedt, g/kg TS	40	2,4	28	0,6
FEsv/kg TS	1,50	0,01	1,16	0,02
FEso/kg TS	1,44	0,01	1,16	0,02
Celite, g/kg TS ¹	12,7	0,97	17,2	4,94
Yttrium (Y), g/kg TS	0,5	0,01	0,4	0,01
Titanium (Ti), g/kg TS	Kunne ikke analyseres			
Essentielle aminosyrer, g/kg TS				
Lys	0,0	0,00	9,3	0,32
Met	0,0	0,00	2,5	0,11
Cys	0,0	0,00	2,9	0,06
Thr	0,0	0,00	6,0	0,39
Trp	Ikke analyseret			
Ile	0,0	0,00	4,8	0,20
Leu	0,2	0,04	9,6	0,35
Val	0,2	0,03	6,3	0,22
His	0,0	0,00	3,1	0,15
Phe	0,0	0,00	6,2	0,21
Arg	0,0	0,00	7,2	0,25
Total	0,4	0,09	57,9	1,91
Ikke-essentielle aminosyrer, g/kg TS				
Ala	0,1	0,11	5,7	0,20
Asp	0,0	0,00	10,4	0,32
Glu	0,0	0,00	29,3	1,21
Gly	0,0	0,00	5,7	0,20
Pro	0,0	0,00	10,0	0,20
Ser	0,0	0,00	6,2	0,24
Tyr	0,0	0,00	3,7	0,15
Total	0,1	0,11	71,0	2,49
Alle aminosyrer, g/kg TS	0,5	0,20	128,9	4,39

¹ Analyseret som syreuopløselig aske.

Passagehastighed og opsamlingsmængde

Tabel 14 viser gennemsnitlig opholdstid af foder fra mund til ileum målt i timer fra fodring til fremkomst af tilsat farve i opsamlet ileum-indhold for grise fodret med STD og den N-Fri blanding. Foderets gennemsnitlige opholdstid frem til ileum var 3,4 for STD-blandingen og 4,3 timer for den N-Fri blanding. I 86 % af tilfældene fremkom foderet i perioden fra 2 og 5 timer efter fodring. **Figur 6** viser mængden af ileum-indhold opsamlet med 30 min. interval efter morgenfodringen fra grise tildelt STD eller N-Fri blanding.

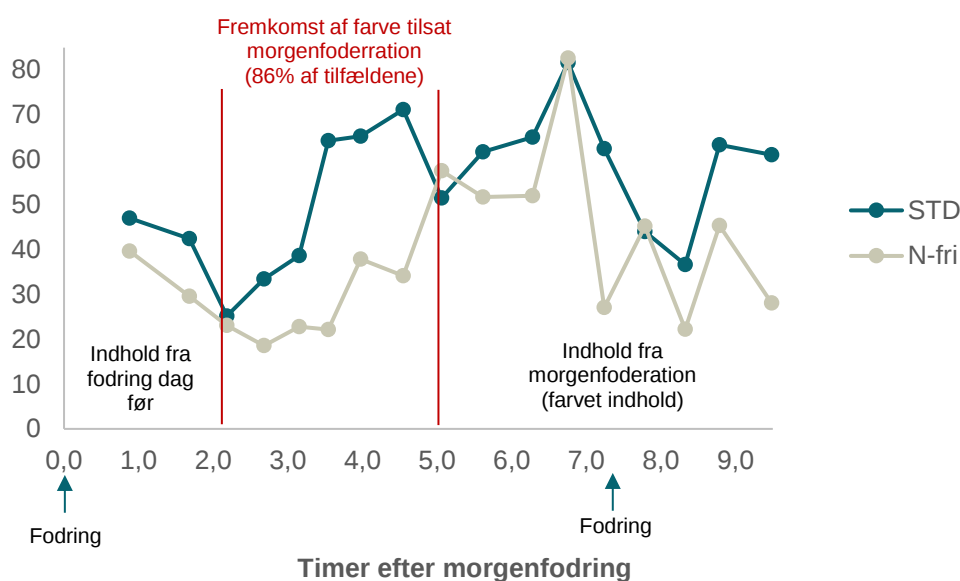
Det fremgår af **Figur 6**, at ved tildeling af STD-blandingen var mængden af opsamlet ileum-indhold mindst fra fodring og frem til ca. 2 timer efter fodring. Til sammenligning blev der ved tildeling af den N-fri blanding opsamlet de mindste mængder af ileum-indhold fra fodring og frem til ca. 3,50 t efter

morgenfodringen. Tiden fra fodring til fremkomst af farve i ileumindhold koblet med den opsamlede mængde viser, at en vis procentdel af det opsamlede ileum-indhold repræsenterer foder fra dagen før og som dermed har opholdt sig i grisens mave-tarmkanal i omkring 17 timer. Samtidig var ileum-indholdet stadig farvet efter 9,5 timer opsamling, hvilket demonstrerer, at der ikke blev samlet ileum-indhold op fra eftermiddagsrationen. Opsamling af ileum-indhold fra eftermiddagsrationen dagen før, der har opholdt sig i mave-tarmkanalen dagen før formentlig vil kompensere for dette. Standardiserede procedurer for fodring og opsamling kan medvirke til at give sammenlignelighed for fordøjelighedsværdier mellem forsøg.

Tabel 14. Passagehastighed af foder fra mund til ileum målt i timer fra fodring med den N-fri blanding og standard-blandingen (STD) til fremkomst af tilsat farve i opsamlet ileum-indhold (Gns. $\pm$ SD).

	STD	N-Fri
Passagehastighed af foder fra mund til ileum, timer	3,4 $\pm$ 1,2	4,3 $\pm$ 1,9

Opsamlet ileum-indhold, g våd vægt



Figur 6. Opsamlet ileum-indhold fra grise fodret med STD eller N-Fri blanding. Prøverne er opsamlet med 30 min. interval efter morgenfodring (time 0). Perioden for typisk fremkomst af farve i ileum-indhold fra farve tilsat morgenens foderration er afgrænset med røde lodrette linjer.

Tabel 15 viser, at den gennemsnitlige daglige totale opsamlede mængde ileum-indhold var omkring 0,55 kg (våd vægt) højere, når grisene blev tildelt STD blandingen sammenlignet med den N-Fri blanding. Forskel, i kg våd vægt, på opsamlet minimum og maksimum mængde var 1,65 for STD og 1,49 for N-Fri blanding. Dette skyldes formentlig en høj fordøjelighed af tørstof af den N-Frie blanding samt en større grad af foderspild og flere foderrester for grise tildelt den N-Frie blanding.

Tabel 15. Opsamlet ileum-indhold for de 2 opsamlingsdage.

	STD	N-Fri
Opsamlet ileum-indhold, kg våd vægt (Gns $\pm$ SD)	1,83 $\pm$ 0,66	1,28 $\pm$ 0,46
Mindste opsamlet mængde, kg våd vægt	0,99	0,59
Maksimal opsamlet mængde, kg våd vægt	2,64	2,08

Basalt endogent tab

Tabel 16 viser det basale endogene tab af protein og aminosyrer bestemt med yttrium og celite som markør i nærværende forsøg samt gennemsnitsværdier for endogent tab bestemt i forsøg fra 14 referencer. Det basale endogene tab af protein og aminosyrer bestemt i dette forsøg (gennemsnit af

værdier bestemt vha. yttrium og celite) samt gennemsnit af værdier fra de 14 forsøg er visuelt illustreret i **Figur 7**. Den gennemsnitlige startvægt på grisene i de 14 forsøg var 44 kg $\pm$ 23 kg varierende fra 14 kg (mindste grise) til 92 kg (største grise).

Sammenhængen mellem det endogene tab bestemt med yttrium og med celite var god. Den tætte sammenhæng mellem resultater for yttrium og celite indikerer, at markørerne følger næringsstofferne i foder og ileum-indhold på samme måde. Det endogene tab af protein og aminosyrer var i gennemsnit 17 % højere, når det var bestemt med yttrium sammenlignet med celite. Denne forskel kan muligvis relateres til forskelle mellem analysemetoder.

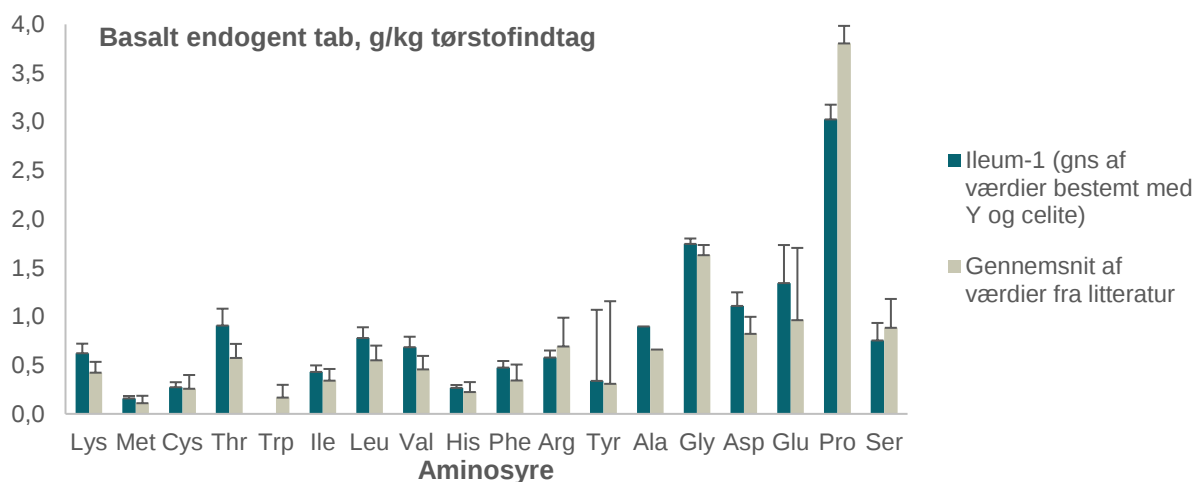
Der var god overensstemmelse mellem det basale endogene tab af protein og aminosyrer bestemt i nærværende forsøg med yttrium og celite og med gennemsnitsværdier fra litteraturen.

Tabel 16. Basalt endogent tab af protein og aminosyrer (AS) bestemt med yttrium og celite som markør. Gns. $\pm$ SD.

	Basalt endogent tab, g/kg tørstof-indtag							
	Yttrium		Celite ¹		Gns. yttrium/celite		Litteratur ²	
	gns.	SD	gns.	SD	gns.	SD	gns.	SD
Protein	19.7	1.96	16.8	2.43	18.3	2.2	19.3	6.4
Essentielle aminosyrer								
Lys	0.7	0.11	0.6	0.08	0.6	0.1	0.4	0.1
Met	0.2	0.03	0.1	0.02	0.2	0.0	0.1	0.1
Cys	0.3	0.05	0.3	0.05	0.3	0.1	0.3	0.1
Thr	1.0	0.18	0.8	0.17	0.9	0.2	0.6	0.1
Trp	Ikke analyseret						0.2	0.1
Ile	0.5	0.08	0.4	0.06	0.4	0.1	0.3	0.1
Leu	0.8	0.12	0.7	0.10	0.8	0.1	0.6	0.2
Val	0.7	0.11	0.6	0.10	0.7	0.1	0.5	0.1
His	0.3	0.03	0.2	0.03	0.3	0.0	0.2	0.1
Phe	0.5	0.08	0.4	0.06	0.5	0.1	0.3	0.2
Arg	0.6	0.06	0.5	0.08	0.6	0.1	0.7	0.3
Sum (ekskl. Trp)	5.6	0.78	4.8	0.68	5.2	0.7	4.0	0.8
Ikke-Essentielle aminosyrer								
Tyr	0.4	0.06	0.3	0.05	0.3	0.1	0.3	0.1
Ala	1.0	0.14	0.8	0.14	0.9	0.1	0.7	0.2
Gly	1.9	0.39	1.6	0.39	1.7	0.4	1.6	0.7
Asp	1.2	0.16	1.0	0.14	1.1	0.2	0.8	0.2
Glu	1.5	0.19	1.2	0.17	1.3	0.2	1.0	0.3
Pro	3.2	1.34	2.8	1.24	3.0	1.3	3.8	3.1
Ser	0.8	0.14	0.7	0.14	0.8	0.1	0.9	1.2
Sum (ekskl. Tyr)	9.6	1.41	8.2	1.62	8.9	1.5	8.1	3.4
Alle aminosyrer (ekskl. Trp, Tyr)	15.2	1.53	12.9	1.94	14.0	1.7	15.9	3.7

¹ Analyseret som syreuopløselig aske.

² Referencer for fundne litteraturværdier: [5], [6], [7], [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16], [17], [18].



Figur 7. Basalt endogent tab (g/kg tørstofindtag) af protein og aminosyrer bestemt i nærværende forsøg (Ileum-1) sammenlignet med gennemsnitsværdier baseret på forsøg fra 14 referencer. Det endogene tab af tryptofan blev ikke bestemt. Referencer for fundne litteraturværdier: [5], [6], [7], [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16], [17], [18].

Tilsyneladende og standardiseret ileal fordøjelighed af protein og aminosyrer

Tabel 17 viser den tilsyneladende (AID) og standardiseret ileal fordøjelighed (SID) af protein og aminosyrer bestemt med yttrium og celite som markør. For både protein og samtlige aminosyrer var den tilsyneladende og standardiserede ileal fordøjelighed højest, når den var bestemt med yttrium sammenlignet med celite, og spredningen var for alle bestemmelser størst med celite. Det er uklart, hvad denne forskel skyldes.

Tabel 17. Tilsyneladende (AID) og standardiserede (SID) ileal fordøjelighed af protein og aminosyrer (AS) for standard foderblanding til slagtegrise bestemt med yttrium og celite som markør. Gns. $\pm$ STD.

	AID, %				SID, %				Tabelværdi ²
	Yttrium		Celite ¹		Yttrium		Celite ¹		
	gns.	SD	gns.	SD	gns.	SD	gns.	SD	
Protein	78	3.1	67	8.0	85	3.6	82	7.1	83
Essentielle aminosyrer									
Lys	80	3.3	77	6.3	87	4.1	83	6.4	87
Met	81	3.3	78	4.9	87	4.0	84	5.0	88
Cys	74	3.6	70	9.8	84	4.3	78	10.5	80
Thr	70	4.1	66	9.1	86	5.8	79	10.2	83
Trp	Ikke analyseret								83
Ile	75	3.5	71	7.2	84	4.7	79	7.5	83
Leu	77	3.2	73	7.1	86	4.1	81	7.4	83
Val	72	4.1	67	8.4	83	5.2	77	9.1	80
His	76	3.2	73	7.0	86	3.8	80	7.4	84
Phe	78	3.1	75	6.8	87	4.0	82	7.1	84
Arg	80	3.5	76	7.3	88	3.8	84	7.5	-
Sum (ekskl. Trp)	76	3.3	73	7.3	86	4.2	81	7.7	-
Ikke-Essentielle aminosyrer									
Tyr	74	4.3	70	7.8	83	5.1	78	8.3	-
Ala	63	5.6	57	10.3	79	7.1	71	11.2	-
Gly	56	8.7	49	12.6	88	6.2	77	12.9	-
Asp	71	4.0	66	7.9	82	5.1	76	8.2	-
Glu	85	2.4	83	4.6	90	2.9	87	4.9	-
Pro	77	5.4	74	6.9	109	13.3	101	13.3	-
Ser	73	3.5	69	8.1	86	4.7	79	9.1	-
Sum (ekskl. Tyr)	76	3.8	72	6.8	90	3.9	84	7.1	-
Alle aminosyrer (ekskl. Trp, Tyr)	76	3.5	73	7.0	88	3.9	83	7.3	-

¹ Analyseret som syreuopløselig aske.

² Beregnet på baggrund af tabelværdier for individuelle fodermidlers indhold og fordøjelighed [19].

5.3. Delkonklusion

Baseret på den gode overensstemmelse mellem det endogene tab af protein og aminosyrer i nærværende forsøg og tilsvarende resultater i litteraturen, vurderes det, at nærværende resultater er valide. Den tilsyneladende og standardiseret ileal fordøjelighed af både protein og samtlige aminosyrer var højest med yttrium sammenlignet med celite. Ud fra forsøget kan det ikke afgøres, hvilken af markørerne, der giver det mest rigtige resultat, men fordi spredningen konsekvent var lavere på bestemmelser med yttrium sammenlignet med celite, vurderes det, at yttrium er den bedste markør af disse to. Derfor vil yttrium blive anvendt, som markør i kommende forsøg til bestemmelse af ileal fordøjelighed.

Konklusion

Genfindning af fordøjelighedsmarkørerne celite og yttrium var hhv. 106 og 83 %, når de blev tilsat foder og målt i foder. Genfindningen af yttrium, titanium og celite var hhv. 94, 96 og 99 %, når de blev tilsat gødning og målt i gødning. Genfindningen af celite og yttrium var hhv. 75 og 80 %, når de blev tilsat foder og målt i gødning efter fordøjelse i grisen. Genfindning fra foder til gødning var ikke tilfredsstillende og kræver derfor videreudvikling af balanceburenes udformning for mere nøjagtig opsamling af foderrester og den totale gødningsmængde. Der blev ikke observeret afblanding af celite eller yttrium i foder under blanding eller transport.

Bestemmelser af næringsstoffer i ileum-indhold og gødning med kemiske analysemetoder til foder var tilfredsstillende, hvorfor det vurderes, at disse metoder også kan anvendes til analyse af ileum-indhold og gødning.

Fækal fordøjelighed bestemt ved total opsamling var betydelig højere sammenlignet med tilsvarende fordøjeligheder bestemt med celite eller yttrium. Fækal fordøjelighed bestemt ved total opsamling overestimeres ved upræcis opsamling af foderrester og eller den totale gødningsmængde, hvilket forventes løst i 2024 med videreudvikling af balanceburenes udformning. Generelt var der god overensstemmelse mellem fækale fordøjeligheder bestemt med celite og yttrium.

Der var god overensstemmelse mellem det endogene tab af protein og aminosyrer i ileum-indhold og tilsvarende resultater i litteraturen, hvorfor det vurderes, at de opnåede resultater er valide. Den tilsyneladende og standardiserede ileale fordøjelighed af både protein og samtlige aminosyrer var højest ved brug af yttrium sammenlignet med celite. Bestemmelser baseret på yttrium resulterede i lavere spredning sammenlignet med celite.

På baggrund af de gennemførte aktiviteter og opnåede resultater vurderes det, at yttrium fremfor celite og titanium er den bedst egnede markør til bestemmelse af ileale fordøjeligheder på nuværende tidspunkt til de gældende forhold, og at rutinemæssige bestemmelser af ileale fordøjeligheder af høj kvalitet kan gennemføres på Forsøgsstation Grønhøj i 2024 samtidig med, at faciliteter og procedurer til bestemmelse af fækale fordøjeligheder etableres.

Referencer

1. Tybirk, P., et al., (2006). *Det danske fodervurderingssystem til svinefoder*. Danks Svineproduktion.
2. Adeola, O., *Digestion and Balance Techniques in Pigs*. 2000.
3. Kong, C., (2014). *Evaluation of Amino Acid and Energy Utilization in Feedstuff for Swine and Poultry Diets*. Asian-Australasian journal of animal sciences, **27**: p. 917-25.
4. Stein, H.H., et al., (2007). *Invited review: Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application*. Journal of Animal Science, **85**(1): p. 172-180.
5. Rho, Y., et al., (2017). *Standardized ileal digestible amino acids and digestible energy contents in high-protein distiller's dried grains with solubles fed to growing pigs*. Journal of Animal Science, **95**(8): p. 3591-3597.
6. Kim, B.G., et al., (2020). *At least 3 days of adaptation are required before indigestible markers (chromium, titanium, and acid insoluble ash) are stabilized in the ileal digesta of 60-kg pigs, but values for amino acid digestibility are affected by the marker*. J Anim Sci, **98**(2).
7. McGhee, M.L. and H.H. Stein, (2018). *Apparent and standardized ileal digestibility of AA and starch in hybrid rye, barley, wheat, and corn fed to growing pigs*. J Anim Sci, **96**(8): p. 3319-3329.
8. Oliveira, M.S.F., J.K. Htoo, and H.H. Stein, (2020). *The direct and difference procedures result in similar estimates for amino acid digestibility in feed ingredients fed to growing pigs*. J Anim Sci, **98**(8).
9. Navarro, D.M.D.L., et al., (2018). *Amino acid digestibility in six sources of meat and bone meal, blood meal, and soybean meal fed to growing pigs*. Canadian Journal of Animal Science, **98**(4): p. 860-867.
10. Ibáñez, J.A., S.A. Lee, and H.H. Stein, (2021). *Sunflower expellers have greater ileal digestibility of amino acids than sunflower meal, but there are only minor variations among different sources of sunflower meal when fed to growing pigs*. J Anim Sci, **99**(8).
11. Fanelli, N.S., et al., (2022). *Digestible indispensable amino acid score (DIAAS) is greater in animal-based burgers than in plant-based burgers if determined in pigs*. Eur J Nutr, **61**(1): p. 461-475.
12. Espinosa, C.D., et al., (2021). *Long-term steam conditioning is needed to maximize the nutritional value of expander-processed soybean expellers*. Canadian Journal of Animal Science, **101**(4): p. 704-714.
13. Clark, A.J., et al., (2022). *Shiitake mycelium fermentation improves digestibility, nutritional value, flavor and functionality of plant proteins*. LWT, **156**: p. 113065.
14. Casas, G.A., et al., (2018). *Ileal digestibility of amino acids in selected feed ingredients fed to young growing pigs*. J Anim Sci, **96**(6): p. 2361-2370.
15. Stein, H.H., et al., (2005). *Additivity of values for apparent and standardized ileal digestibility of amino acids in mixed diets fed to growing pigs*. J Anim Sci, **83**(10): p. 2387-95.
16. Zhai, H. and O. Adeola, (2011). *Apparent and standardized ileal digestibilities of amino acids for pigs fed corn- and soybean meal-based diets at varying crude protein levels*. J Anim Sci, **89**(11): p. 3626-33.
17. Xue, P.C., D. Ragland, and O. Adeola, (2014). *Determination of additivity of apparent and standardized ileal digestibility of amino acids in diets containing multiple protein sources fed to growing pigs*. J Anim Sci, **92**(9): p. 3937-44.
18. Eklund, M., et al., (2015). *Effect of processing of rapeseed under defined conditions in a pilot plant on chemical composition and standardized ileal amino acid digestibility in rapeseed meal for pigs*. J Anim Sci, **93**(6): p. 2813-25.
19. Sloth, N.M., (2023). *Fodermiddeltabellen*. SEGES Innovation 2023

Deltagere

Tekniker: Per Mark Hagelskjær, Lasse Nørskov Møller, Peter Juhl Rasmussen

Afprøvning nr. 1814, 1817, 1917

NAV nr.: 1441

//JAHP//

Dyregruppe: Gris

Fagområde: Foder og ernæring

Nøgleord: Fordøjelighed, markør, genfindning, fækal, ileal, basalt endogent tab, protein, aminosyrer.

Appendiks 1

Planlagt indhold af markører i de 42 foderprøver til analyse for celite (Sand) og yttrium.

Prøvenr.	Portionsstørrelse	Y ₂ O ₃	Celite 545
	kg	g/kg	g/kg
1	≈ 0,3 kg	0,0	0
2	≈ 0,3 kg	0,0	8
3	≈ 0,3 kg	0,0	16
4	≈ 0,3 kg	0,0	24
5	≈ 0,3 kg	0,0	0
6	≈ 0,3 kg	0,0	8
7	≈ 0,3 kg	0,2	16
8	≈ 0,3 kg	0,2	24
9	≈ 0,3 kg	0,2	0
10	≈ 0,3 kg	0,2	8
11	≈ 0,3 kg	0,2	16
12	≈ 0,3 kg	0,2	24
13	≈ 0,3 kg	0,6	0
14	≈ 0,3 kg	0,6	8
15	≈ 0,3 kg	0,6	16
16	≈ 0,3 kg	0,6	24
17	≈ 0,3 kg	0,6	0
18	≈ 0,3 kg	0,6	8
19	≈ 0,3 kg	1,0	16
20	≈ 0,3 kg	1,0	24
21	≈ 0,3 kg	1,0	0
22	≈ 0,3 kg	1,0	8
23	≈ 0,3 kg	1,0	16
24	≈ 0,3 kg	1,0	24
25	≈ 10 kg	0,2	8
26		0,2	8
27		0,2	8
28	≈ 10 kg	0,2	24
29		0,2	24
30		0,2	24
31	≈ 10 kg	0,6	16
32		0,6	16
33		0,6	16
34	≈ 10 kg	0,6	8
35		0,6	8
36		0,6	8
37	≈ 10 kg	1,0	24
38		1,0	24
39		1,0	24
40	≈ 10 kg	1,0	16
41		1,0	16
42		1,0	16

Appendiks 2

Foderstyrke anvendt i afp 1891 (Ileum-1) beskrevet under aktivitet 5.

Foderstyrke af de enkelte grise i forhold til deres vægt på operationsdagen.

Vægt	Tildeling per fodring	
Kg	kg/dag	kg/fodring
25	1,17	0,58
26	1,20	0,60
27	1,24	0,62
28	1,28	0,64
29	1,31	0,65
30	1,35	0,67
31	1,37	0,69
32	1,38	0,69
33	1,41	0,70
34	1,44	0,72
35	1,47	0,74
36	1,50	0,75
37	1,54	0,77
38	1,57	0,78
39	1,59	0,80
40	1,63	0,82
41	1,66	0,83
42	1,68	0,84
43	1,72	0,86
44	1,75	0,87
45	1,78	0,89
46	1,81	0,90
47	1,85	0,92
48	1,88	0,94
49	1,91	0,96
50	1,94	0,97
51	1,97	0,99
52	2,01	1,00
53	2,04	1,02
54	2,07	1,03
55	2,12	1,06
56	2,15	1,07
57	2,18	1,09
58	2,20	1,10
59	2,24	1,12
60	2,27	1,13
61	2,30	1,15
62	2,35	1,17
63	2,38	1,19
64	2,41	1,20
65	2,44	1,22