

PROTOCOL

VOOR EEN FAECALE VERTERINGSPROEF

MET HAMELS

Dit protocol is geaccordeerd door de werkgroep "Voeding Herkauwers en Paarden" van het Centraal Veevoederbureau.

Verteringsproeven met voedermiddelen, die worden uitgevoerd met de bedoeling dat de uitkomsten ervan worden betrokken bij het vaststellen van de waarden gepubliceerd in de Veevoedertabel van het CVB, dienen conform dit protocol te worden gegenereerd.

PROTOCOL VOOR EEN FAECALE VERTERINGSPROEF MET HAMELS

1 DOEL

Het vaststellen van gehalten aan (schijnbaar) verteerbare organische bestanddelen in voeders ten behoeve van de berekening van energiewaarde voor herkauwers volgens de in Nederland gehanteerde waarderingsystemen (Voedereenheid melk: VEM; Voedereenheid vleesvee intensief (VEVI). Bepaling van deze gehalten bij gecastreerde mannelijke schapen (hamels) is daarbij de referentiemethode.

2. DEFINITIE/TOELICHTING

Bij een dusdanige rantsoenering dat voldoende energie uit een rantsoen wordt opgenomen voor de instandhouding van het lichaam, zijn de verschillen in verteringsniveau tussen rundvee en schapen verwaarloosbaar. Om praktische redenen vormt daarom de verteringsproef met hamels de referentie in Nederland en in de meeste andere landen. Correcties voor afwijkingen in vertering(sniveau) als gevolg van verschillen in voerniveau - bij hamels op onderhoudsniveau en bij rundvee op een hoger, veelal op productieniveau - vinden plaats in de vervolgberekeningen voor energiewaarde c.q. bij de afleiding van de behoeftenormen.

Onder de schijnbare verteerbaarheid van een rantsoen of een bestanddeel van het rantsoen wordt verstaan het verschil tussen de opgenomen en de via de mest uitgescheiden hoeveelheid.

De verteerbaarheid wordt uitgedrukt in procenten en wordt verteringscoëfficiënt (VC) genoemd. Voor een verklaring van de gebruikte afkortingen wordt zondig verwezen naar de Veevoedertabel (1995).

3. PRINCIPE

Over een bepaalde periode wordt de hoeveelheid opgenomen rantsoen nauwkeurig vastgesteld. Daarnaast worden de uitgescheiden feces kwantitatief verzameld. Zowel rantsoen als feces worden bemonsterd en geanalyseerd op de te onderzoeken nutriënten. Door het verschil van de hoeveelheden opgenomen en uitgescheiden nutriënt uit te drukken in procenten van de opname wordt de VC van een nutriënt in het rantsoen vastgesteld.

Bij een zgn. directe meting bestaat het rantsoen uitsluitend uit het te onderzoeken voeder (proefvoeder); de VC's van de betreffende nutriënten in het proefvoeder zijn in dat geval gelijk aan die van het rantsoen.

Bij een zgn. indirecte meting bestaat het rantsoen uit een proefvoeder en één of meer basisvoerders. De VC's van het proefvoeder worden via verschilberekeningen uit die van het rantsoen en de basisvoerders berekend.

Bij indirecte proeven wordt in uitgegaan van additiviteit van verteerbare bestanddelen.

4. PRECISIE

Criterium bij de beoordeling van de nauwkeurigheid van de proefuitkomsten is de zgn. verteringscoëfficiënt van de organische stof (VCos) van het opgenomen rantsoen. De standaardafwijking van het gemiddelde (SEM) mag niet hoger zijn dan 2 %-eenheid. De te behalen nauwkeurigheid voor de standaardafwijking van de verteerbaarheid van de organische stof van het proefvoer is afhankelijk van de gewichtsverhouding tussen basisvoer en proefvoer in het opgenomen rantsoen. Uit praktische overwegingen worden de proeven standaard uitgevoerd met 4 dieren per behandeling. Om aan het gestelde kwaliteitscriterium te voldoen dient in bepaalde gevallen een groter aantal dieren te worden ingezet dan standaard wordt gebruikt.

5. BENODIGDHEDEN

Voor de proefuitvoering zijn in werkvoorschriften beschreven stofwisselingsboxen en voer-, mest- en restcontainers nodig, benevens adequate weegapparatuur. Bij de opslag van voer, resten en mest moeten omzettingen worden voorkomen die afwijkingen in afgeleide verteringscijfers tot gevolg kunnen hebben.

6. WERWKIJZE

6.1 Proefplan en vastlegging proefverloop

Proefuitvoering vindt plaats op basis van een geaccordeerd proefplan. In het proefplan worden die gegevens vermeld:

- a. waarvan dit protocol expliciet aangeeft dat ze hierin moeten worden beschreven;
- b. die een afwijking (of uitbreiding) van de in dit protocol beschreven werkwijze betekenen, en
- c. die een door het betreffende instituut wenselijk geachte concretisering van dit protocol inhouden.

In een logboek of anderszins worden alle gegevens vastgelegd die voor een verantwoorde interpretatie en rapportage van de proef nodig zijn.

6.2 Dieren

Volwassen mannelijke schapen van Texels ras of kruislingen daarvan (zoals Flevolandse), die een castratie hebben ondergaan, met een lichaamsgewicht van ca. 75 kg (maximaal 90 kg bij opstallen). De dieren verblijven niet langer dan 120 dagen onafgebroken op de stofwisselingsboxen en hebben tussen proefperiodes minstens een maand ruime bewegingsvrijheid.

Aan het begin van de eerste adaptatieperiode vinden de noodzakelijk geachte veterinaire behandelingen (bijv. ontworming) plaats.

6.3 Huisvesting

De dieren worden gehuisvest op daartoe geschikte stofwisselingsboxen in een daarvoor bestemde ruimte (waar temperatuurbeheersing tussen 10 en 18 °C mogelijk is). De boxen zijn dusdanig geconstrueerd dat een adequate scheiding van geproduceerde mest en urine mogelijk is.

6.4 Rantsoenen

6.4.1 Definities

Rantsoen:

Het rantsoen bestaat uit een proefvoeder, eventueel aangevuld met één of meer basisvoerders. Het rantsoen wordt tijdens voor- en hoofdperiode aan de dieren verstrekt.

Proefvoeder:

Een proefvoeder kan zijn een enkelvoudig (vochtrijk) voedermiddel, ruwvoeder of voermengsel.

Basisvoeder:

Een basisvoeder is een voeder dat naast een proefvoeder wordt verstrekt omdat het proefvoeder niet enkelvoudig wordt opgenomen of niet voldoet aan de voor een rantsoen (zie 6.4.4) gestelde eisen.

6.4.2 Proefvoeder

Een te onderzoeken proefvoeder kan door de opdrachtgever aan de onderzoekinstelling worden aangeleverd danwel op verzoek uit de markt worden betrokken. In het laatste geval dienen afspraken te worden gemaakt ten aanzien van de criteria waaraan moet worden voldaan. Voor een mengvoergrondstof gelden als regel de volgende criteria:

- Bij microscopische analyse moet blijken dat de zuiverheid voldoet aan de criteria beschreven in de 'Lijst van enkelvoudige diervoedergrondstoffen' (CVB, 1994);
- Van het te onderzoeken product moet de herkomst zoveel mogelijk omschreven zijn (land, ras, aard productieproces, etc.)

Afhankelijk van de te onderzoeken grondstof en het doel van het onderzoek kunnen aanvullende (analytische) eisen worden gesteld. Als de proeven (mede) worden uitgevoerd ten behoeve van de CVB-Veevoedertabel of de Handleiding Voederwaardeberekening Ruwvoerders, dient bij de analyses te worden voldaan aan daartoe geformuleerde eisen.

Wanneer het proefvoeder een mengvoedergrondstof is, wordt deze in het algemeen in het rantsoen verwerkt zoals deze in de markt wordt aangeboden.

6.4.3 Basisvoeder(s)

Om er zeker van te zijn dat te verstrekken basisvoerders aan de gestelde criteria voldoen wordt een monster ervan voorafgaand aan de verstrekking via chemische analyse gecontroleerd op de meest relevante parameters.

6.4.4 Rantsoenen

Bij de formulering van rantsoenen wordt uitgegaan van de reeds beschikbare waarden van basis- en proefvoerders; bij ontbreken daarvan vindt berekening plaats met behulp van tabelwaarden.

Uitgangspunt voor het te verstrekken rantsoen is een zo groot mogelijk aandeel proefvoer in het rantsoen. Om een normale pensfermentatie te waarborgen zijn de volgende randvoorwaarden aan het rantsoen van toepassing (ds-basis):

- * minimaal 20 % ervan bestaat uit (lang of grof gehakseld) ruwvoer, bij voorkeur in de vorm van grashooi of grassilage;
- * minimaal 2% N, waarvan minstens 70% in de vorm van pensafbreekbaar ruw eiwit;
- * maximaal 10% vet;
- * maximaal 15% suiker.

Naar berekening moet het rantsoen minstens 80% van de behoefte aan mineralen, spoorelementen en vitamines bevatten.

6.4.5 Voerverstrekking

De voerverstrekking (verdeeld over 2 gelijke porties) per dier per dag is in principe 40 g droge stof per kg metabolisch lichaamsgewicht ($W^{3/4}$). Het lichaamsgewicht (W) wordt bij het op de boxen plaatsen van de dieren vastgesteld. In de praktijk is standaardisatie op 1000 g droge stof per dier per dag gebruikelijk.

Water moet steeds onbeperkt beschikbaar zijn.

In verband met controle op darmassage en mestverzameling is het noodzakelijk dat de mestconsistentie als normaal wordt beoordeeld.

6.5 Perioden

De totale proefperiode wordt onderscheiden in:

a. Gewennings- of adaptatieperiode (Ap).

Deze periode dient om de dieren te laten wennen aan veranderde huisvestingsomstandigheden en/of veranderingen in rantsoen. De duur van deze periode is 0-2 weken, afhankelijk van de rantsoenwijziging die optreedt. In deze periode worden de dieren geleidelijk aan het nieuwe

rantsoen gewend en vindt beoordeling plaats van opname en mestconsistentie. De dieren verblijven tijdens deze periode doorgaans al op de boxen.

b. Voorperiode (Vp).

Deze periode beoogt het dier in een steady state te brengen. De voorperiode duurt 11 dagen. In deze periode wordt exact hetzelfde rantsoen gevoerd als in de hoofdperiode. Resten en mest worden echter niet verzameld.

c. Hoofdperiode (Hp).

In deze periode worden hoeveelheden verstrekt voer, eventuele voerresten en mestproductie kwantitatief tot op grammen nauwkeurig per dier vastgesteld. De hoofdperiode duurt 10 dagen (10x24 uur). Tussen HP-voer en HP-mest wordt een tijdsinterval van 24 uur aangehouden, dwz. HP-mest start en eindigt 24 uur later dan HP-voer.

6.6 Verzameling/bewaring/bemonstering voer en mest

Nadat tijdens de gewenningsperiode of daaraan voorafgaand het in de voor- en hoofdperiode te verstrekken rantsoen is vastgesteld worden dagporties van proefvoer en eventueel basisvoer afgewogen en vervolgens adequaat opgeslagen tot het moment van verstrekking. Tijdens het afwegen worden van het proefvoeder en van eventuele basisvoerders overeenkomstig daartoe strekkende werkvoorschriften deelmonsters genomen, die vervolgens worden samengevoegd tot verzamelmonsters. Na homogeniseren wordt uit de verzamelmonsters het benodigde aantal submonsters genomen voor analyse en bewaring. De bemonstering moet minstens voldoen aan normvoorschrift ISO/DIS 6497 c.q. de beschrijving in de 'Handleiding Voederwaardeberekening Ruwvoerders' (CVB, 1992).

Voorresten en mest worden gedurende de hoofdperiode (10x24 uur) kwantitatief per dier apart verzameld (waarbij tussentijdse omzettingen worden tegengegaan, bijvoorbeeld door het toevoegen van formaline in combinatie met opslag in een gekoelde ruimte of door diepvriezen) en na afloop gewogen en in duplo bemonsterd (mest na homogenisatie).

6.7 Laboratoriumanalyses in voer en mest

Voorbehandeling van en (chemische) bepalingen in monsters voer, voorresten en mest vinden plaats overeenkomstig van kracht zijnde normvoorschriften. De in het proefvoeder en de faeces standaard uit te voeren analyses staan (met de daarbij te gebruiken methode) vermeld in tabel 1.

Voor de afleiding van verteringscijfers worden in gebruikte basisvoerders altijd bepaald: gehalten aan vocht, as, ruw-eiwit ($N \times 6,25$), vet(HCl-voorbehandeling), ruwe celstof en de bruto-energie. In vochtrijke voeders vindt bepaling plaats van het gehalte aan vluchtige bestanddelen. Het ds-gehalte wordt daarvoor gecorrigeerd. Het kan voor de interpretatie van de proefuitkomsten van belang zijn om tevens bepalingen van andere celwandparameters en zetmeel in mest uit te voeren (in het proefplan nader te omschrijven).

Analyses in voeders worden (minimaal) in tweevoud uitgevoerd, hetzij door simpto analyses in duplo-submonsters, hetzij door duplo-analyses in één submonster te doen. De mest wordt per dier in duplo geanalyseerd op vocht- en asgehalte. Wanneer duplo-verschillen van deze beide bepalingen vallen binnen de daartoe geldende normvoorschriften worden de andere bepalingen in principe per dier in enkelvoud uitgevoerd.

Te verrichten bepalingen in eventuele voorresten zijn afhankelijk van de omvang van de rest in relatie tot de verstrekte hoeveelheid voer. Bij minder dan 1% rest wordt de analyse van het voer aangehouden; bij 1-10% rest vindt minstens (duplo-)analyse plaats van vocht en as; bij meer dan 10% rest vindt daarnaast ook (duplo-)bepaling plaats van gehalten aan eiwit, vet en celwandbestanddelen.

Voor wat betreft het uitvoeren van heranalyses bij onaanvaardbare verschillen tussen duplo-waarden dienen per laboratorium voldoende gewaarborgde regels in het kader van GLP, Sterlab of andere certificering te gelden.

Tabel 1. Standaard uit te voeren analyses in voer en mest

| Parameter | Voer | Mest | Analysemethode |
|-------------------------------------|------|-----------------|---|
| Droge stof | X | X | Drogen tot constant gewicht bij 103°C (NEN 3332) of (bij > 40 g suiker/kg) bij 80°C onder vacuüm (ISO 6496) |
| RAS | X | X | Residu na 3 uur verassen bij 550°C (ISO 5984, NEN 3329) |
| RE | X | X ¹⁾ | totaal-N vlg. Dumas-methode (Merz, W.; 1968)/N vlg. Kjeldahl (ISO 5985, NEN 3330); beide vermenigvuldigd met 6,25 |
| RVET | X | X | Extractie met petroleümether (NEN 3148, ISO 6492) na voorafgaande hydrolyse met HCl (Eg L15/29-30 methode B) |
| RC | X | X | Gloeiverlies bij 550°C na koken met verdund H ₂ SO ₄ en verdunde KOH (NEN 5415; ISO/DP 6865) |
| Zetmeel (Enzymatisch) ²⁾ | X | | Kwantitatieve bepaling van glucose na volledige hydrolyse van zetmeel in het 40 % ethanol precipitaat met amyloglucosidase (NEN 3574) |
| Suiker | X | | Reducerende suikers na inversie, volgens Luff Schoorl (NEN 3571) |
| NDF | X | | Protocol voor de analyse van niet-zetmeel koolhydraten (NSP), Produktschap voor Veevoeder (1992) |
| ADF | X | | Protocol voor de analyse van niet-zetmeel koolhydraten (NSP), Produktschap voor Veevoeder (1992) |
| ADL | X | | Protocol voor de analyse van niet-zetmeel koolhydraten (NSP), Produktschap voor Veevoeder (1992) |
| Bruto-energie | X | X | Bomcalorimetrische methode (ISO/DIS 9831) |
| VCOS-pensvloei-stof methode | X | | CVB-Documentatierapport nr. 17 (1996) |
| VCOS-cellulase methode | X | | CVB-documentatierapport nr. 17 (1996) |

¹⁾ analyses in (lucht)gedroogde monsters, behalve voor N (vers).

²⁾ afhankelijk van de grondstof (zie meest recente editie van de Veevoedertabel, CVB) kan in plaats van de enzymatische bepaling polarimetrisch onderzoek (Ewers, NEN 3572, EEG richtlijn nr. 72/199; PB L123/72) worden toegepast. In die gevallen is het zinvol het gehalte volgens beide methoden te bepalen.

7. RESULTATEN

7.1 Berekening

Berekening van de verteringscoëfficiënten (VC) van bestanddelen van het opgenomen rantsoen en van het proefvoeder vindt plaats met een vast rekenprogramma. Het principe van de berekening is: $VC_{\text{nutriënt}} = (A - B)/A * 100$ (%), waarbij:

A = hoeveelheid tijdens de hoofdperiode opgenomen nutriënt (in g);

B = hoeveelheid tijdens de hoofdperiode in de mest uitgescheiden nutriënt (in g).

De VC wordt voor iedere nutriënt per rantsoen en per dier berekend, waarna ook berekening van rantsoengemiddelde en standaardafwijking plaatsvindt.

Bij berekeningen met betrekking tot het proefvoeder wordt uitgegaan van additiviteit van verteerbare bestanddelen in basis- en proefvoer. De berekening van de VC-waarden van het proef-

voeder vindt plaats zoals voor het rantsoen is aangegeven, waarbij uiteraard de bijdrage van de basisvoerders aan de hoeveelheid met het voer opgenomen en via de mest uitgescheiden hoeveelheden nutriënt in mindering worden gebracht op de voor het rantsoen vastgestelde hoeveelheden. Daarbij wordt gerekend met de (eerder vastgestelde) gemiddelde VC van de basisvoerders.

Berekening van energiewaarde van het proefvoer vindt plaats overeenkomstig daartoe in CVB-verband gemaakte afspraken, waarbij voor de GE-berekening wordt uitgegaan van de bepaalde verbrandingswaarde.

7.2 Beoordeling resultaten

Laboratoriumresultaten worden (voorzover relevant) getoetst op criteria voor duplo-monsters.

Proefuitkomsten worden beoordeeld op tussen-dierverschillen, waarbij de verteerbaarheid van de organische stof (VCos) van het rantsoen leidend is. Bij de beoordeling worden betrokken: congruentie tussen verteringscijfers van droge stof, organische stof en energie; relatie tussen in-vivo- en in-vitro-vertering van het proefvoer; overeenstemming in mestconsistentie. Bij een standaardafwijking van het gemiddelde (SEM) van VCos-rantsoen kleiner dan 1%-eenheid is de uitslag in principe akkoord; bij een SEM tussen 1 en 2% vindt een algehele controle plaats. Dit houdt o.a. in: het nalopen van voer-, rest- en mestlijsten en de daarbij behorende analyseresultaten op mogelijk onjuiste overname bij de berekeningen of onregelmatigheden (zoals in het patroon van eventuele voerresten); beoordeling van de overeenstemming in mestconsistentie etc. Als op grond van deze controle gerede twijfel ontstaat over de representativiteit van de waarde van één der dieren, kan dit leiden tot het besluit de waarden verkregen met dit dier voor verdere berekeningen uit te sluiten.

Bij een SEM van VCos-rantsoen van meer dan 2% wordt de proef in principe als mislukt beschouwd.

7.3 Weergave uitslagen

Een samenvatting van de proefuitkomsten wordt weergegeven in een vast print-format. Analytische gehalten worden weergegeven in g of MJ per kg (voorzover relevant in de droge stof), verteringscoëfficiënten als percentage (één decimaal) en voederwaarden in de daartoe in CVB-verband afgesproken eenheden.

Rapportage van de resultaten behelst in elk geval:

- Omschrijving van de gebruikte dieren (o.a. aantal, leeftijd, gewicht)
- Karakterisering van en weergave van de resultaten van verrichte analyses in het onderzochte proefvoer;
- Samenstelling van het verstrekte rantsoen;
- Informatie over de voederopname;
- Gemiddeld vastgestelde verteringscoëfficiënten van de nutriënten van het opgenomen rantsoen en van het proefvoer, benevens de standaardafwijking van die gemiddelden;
- Eventuele bijzonderheden de proef betreffende.

8. BEWARING

Analyseklaar (in het algemeen luchtdroog) gemaakte monsters van het proefvoer worden voor tenminste 5 jaar bewaard in een daartoe geschikt monstermagazijn. Monsters mest worden in principe op overeenkomstige wijze bewaard tot 2 jaar na accorderen van de proefuitkomsten.

9. REGISTRATIE

Formulieren, documenten en analyseresultaten worden per proef verzameld en opgeslagen en tenminste 5 jaar bewaard onder verantwoordelijkheid van de betreffende onderzoeker.

Van de verteringsproeven waarvan het de bedoeling is dat ze door het Centraal Veevoederbureau worden betrokken bij het vaststellen van tabelwaarden, worden na accordering van de definitieve rapportage de hiervoor noodzakelijke gegevens doorgegeven aan het CVB voor opname in de Veevoederdatabank.

10. LITERATUUR

Es A.J.H. van en J.M. van der Meer (eds.), 1980. Methods of analysis for predicting the energy and protein value of feeds for farm animals. Proceedings CEC Workshop on Methodology of analysis of feedingstuffs for ruminants. Publ. IVVO, Netherlands.

Handleiding Voederwaardeberekening Ruwvoerders. 1992. Uitgave: Centraal Veevoederbureau, Lelystad.

Lijst van enkelvoudige diervoedergrondstoffen. CVB-reeks nr. 17. 1994. Uitgave: Centraal Veevoederbureau, Lelystad.

Meer J.M.van der en A. Steg, 1978. Monsters en monsterverwerking; voor het verkrijgen van betrouwbare proefuitkomsten. Rapport 111 IVVO.

Protocol voor de analyse van niet-zetmeel koolhydraten (nsp). (Eds. A.H.van Gelder, E.M. te Brinke, J.W. Cone, H.J. van Lonkhuijzen, J.M. Jetten en W.J. Lichtendonk), 1992. Kwaliteitsreeks nr. 19 Produktschap voor Veevoeder, Den Haag

Steg A., 1979. Investigation on methods of predicting feeding value of feedstuffs for beef cattle in COST-countries. Proceedings Seminar Energy and protein feeding standards for beef cattle. Publ. EG, Brussel.

Steg A., J.M. van der Meer, B. Smits en V.A. Hindle, 1988. Predicting the digestibility of feedstuffs; recent developments. Annual Report 1987 IVVO.

Veevoedertabel. Gegevens over chemische samenstelling, verteerbaarheden en voederwaarde van voedermiddelen. 1995. Uitgave: Centraal Veevoederbureau, Lelystad.