

PROTOCOL

VOOR EEN VERTERINGSPROEF MET VLEESKUIKENS TER BEPALING VAN DE OMZETBARE ENERGIE EN FECALE VERTEERBAARHEID VAN NUTRIËNTEN

(Versie december 2000)

Dit protocol is geaccordeerd door de werkgroep "Voeding Pluimvee en Konijnen" 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 VERTERINGSPROEF MET VLEESKUIKENS TER BEPALING VAN DE OMZETBARE ENERGIE EN VERTEERBAARHEID VAN NUTRIËNTEN

1. DOEL

Het vaststellen van de omzetbare energie bij N-evenwicht (OE_N) en de verteerbaarheid van nutriënten (primair de Weende analyse componenten) van rantsoenen en enkelvoudige voeder-middelen bij vleeskuikens in het kader van het in Nederland voor deze categorie bestaande OE_N -systeem (en het te ontwikkelen NE-systeem), gebaseerd op kwantitatieve verzameling van de feces.

2. DEFINITIE/ TOELICHTING

De verteerbaarheid van een nutriënt is het quotiënt van de hoeveelheid schijnbaar verteerde en de hoeveelheid opgenomen nutriënt.

Bij de fecale verteerbaarheid wordt de schijnbaar verteerde hoeveelheid van een nutriënt berekend uit de hoeveelheid met het voer opgenomen nutriënt en de met de feces uitgescheiden hoeveelheid van dat nutriënt.

Aangezien de hoeveelheid van een nutriënt dat met de feces wordt uitgescheiden de som is van de hoeveelheid op die plaats onverteerde nutriënt uit het rantsoen plus de hoeveelheid van deze nutriënt van endogene oorsprong, wordt de gemeten verteerbaarheid een schijnbare verteerbaarheid genoemd.

Opmerking: Bij de verteringsproeven (en de -mede op grond van dergelijke proeven geformuleerde- voederwaarderingssystemen voor de praktijk) wordt uitgegaan van volledige additiviteit van de verteerbare bestanddelen.

De verteerbaarheid wordt uitgedrukt in procenten en wordt de verteringscoëfficiënt (VC) genoemd.

Ten behoeve van het in de praktijk kunnen schatten van de OE_N - (en in de toekomst van de NE-)waarde van voedermiddelen voor vleeskuikens dient -naast de OE_N -waarde- de schijnbare verteerbaarheid van de Weende analyse componenten te worden bepaald. Dit gebeurt bij een *ad libitum* voerniveau. Om zo betrouwbaar mogelijke uitspraken te kunnen doen t.a.v. de verteerbaarheid van de nutriënten in het te onderzoeken proefvoeder, dient verder het aandeel van het proefvoeder in het proefrantsoen in de meeste gevallen zo hoog mogelijk te zijn, zonder dat dit leidt tot imbalansen en verstoringen in de voeropname en/of de verteringsfysiologie, veroorzaakt door bepaalde bestanddelen in het proefvoeder.

Voor een verklaring van de gebruikte afkortingen wordt zonedig verwezen naar de Veevoedertabel (2000).

3. PRINCIPE

Ten behoeve van de bepaling van de OE_N en de fecale verteerbaarheid van organische stof, ruw vet, koolhydraten en overige organische stof¹ wordt over een bepaalde periode de hoeveelheid opgenomen rantsoen nauwkeurig vastgesteld. Daarnaast wordt de hoeveelheid uitgescheiden excreta over deze periode kwantitatief verzameld.

¹ Er wordt uitgegaan van een (vrijwel) volledige fecale verteerbaarheid van zetmeel en de enzymatisch verteerbare suikers glucose, fructose, saccharose, maltose en lactose (de laatste mits in beperkte hoeveelheden verstrekt). Incidenteel -en indien de aard van de zetmeelbron daartoe aanleiding geeft- dient de fecale verteerbaarheid van zetmeel -met gebruikmaking van een enzymatische analysemethode- te worden geverifieerd. De fractie "overige organische stof", OOS, is gedefinieerd als $OS - RE - RVET - ZET - CFdi * SUI$; CFdi de factor waarmee het als glucose-eenheden uitgedrukte SUI-gehalte wordt omgerekend naar het gehalte aan suikers zoals in het product aanwezig). De fractie "verteerbare overige organische stof", VOOS, is gedefinieerd als $VOS - VRE - VRVET - ZET - CFdi * SUI$.

Voor het bepalen van de verteerbaarheid worden rantsoen en excreta bemonsterd en geanalyseerd op de gehalten aan de te onderzoeken nutriënten. Voor bepaling van de OE-waarde wordt de energie-inhoud van voer en excreta bepaald. De OE-waarde van het proefvoer bij N-evenwicht (OE_N) wordt berekend door de energie-inhoud van de excreta te corrigeren voor de N-retentie. Een correcte bepaling van de fecale verteerbaarheid van de organische stof vereist een correctie voor de hoeveelheid met de urine uitgescheiden N-houdende organische componenten. Door het verschil van de hoeveelheden opgenomen en fecaal uitgescheiden nutriënt uit te drukken in procenten van de opname wordt de verteringscoëfficiënt (VC) van de onderscheiden nutriënt vastgesteld.

Voor de bepaling van de OE_N en nutriëntverteerbaarheid van individuele voedermiddelen (= proefvoeder) voor kuikens wordt gebruik gemaakt van zg. indirecte methode; daarbij worden twee rantsoenen onderzocht:

- a) een basisrantsoen bestaande uit een basisvoeder, en
- b) een proefrantsoen dat bestaat uit X % proefvoeder en (100 - X) % van het onder a) bedoelde basisvoeder.

De OE_N en VC's van de nutriënten van het proefvoeder worden via verschilberekening uit de VC's van het basisrantsoen en proefrantsoen berekend.

Binnen een proef of serie proeven, waarbij de verteerbaarheid van één of meer proefvoerders worden onderzocht, moet steeds de verteerbaarheid van het basisrantsoen opnieuw worden vastgesteld.

4. PRECISIE

Maximaal aanvaardbare standaardafwijking van het gemiddelde (SEM)

Voor de kwaliteitsbeoordeling van een verteringsproef zoals bedoeld in dit protocol worden de volgende criteria gebruikt:

- voor de verteerbaarheid op fecaal niveau wordt de SEM (standaardafwijking van het gemiddelde) van de -op bomcalorimetrische metingen gebaseerde- omzetbare energie (OE) van een rantsoen als criterium gehanteerd. Aan de SEM (berekend over alle proefgroepen waarvoor waarnemingen zijn verzameld) van de gemiddelde OE van een rantsoen wordt de eis gesteld dat deze ≤ 1 % eenheden moet zijn.

Om deze criteria te kunnen garanderen, kan het voorkomen dat in bepaalde gevallen een groter aantal herhalingen moet worden ingezet dan standaard (zie punt 6.2) wordt gebruikt. Als er voor de aanvang van de proef gegronde redenen zijn om -ondanks een groter aantal herhalingen- te twifelen aan de realiseerbaarheid van bovenstaand OE-criterium, dan kan in dergelijke uitzonderingsgevallen vooraf worden overeengekomen dat hiervoor ≤ 2 % wordt aangehouden.

Als, ook na herhaalde controle van de verkregen gegevens en/of heranalyse, aan het precisiecriterium zoals geformuleerd in deze paragraaf niet wordt voldaan, moet de proef als mislukt worden beschouwd.

De nauwkeurigheid van de VC's van de individuele nutriënten in het proefvoeder is bij een indirecte meting o.a. afhankelijk van het gehalte en het niveau van verteerbaarheid van de betreffende nutriënt in het proefvoer en tevens van de verhouding tussen proefvoer en basisvoeder(s) in het rantsoen; daarom is de nauwkeurigheid waarmee de VC's voor het proefvoeder worden bepaald niet goed bruikbaar als precisiecriterium.

5. BENODIGDHEDEN

Uitvoering van een proef gebeurt volgens een proefplan en een aantal werkvoorschriften (o.a. voor de te gebruiken apparatuur). Hierin staat vermeld wat voor de concrete proefuitvoering nodig is.

6. WERKWIJZE

6.1 Proefplan en vastlegging proefverloop

6.1.1 Proefplan

Een proefplan is een nadere uitwerking van een protocol voor een bepaalde proef bij een bepaalde instelling.

De proefuitvoering vindt plaats op basis van een geaccordeerd proefplan.²

In het proefplan dienen onder andere de volgende gegevens te worden opgenomen:

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

6.1.2 Proefverloop

In een logboek of anderszins worden alle gegevens vastgelegd die voor een verantwoorde interpretatie en rapportage van de proef nodig zijn, zoals gezondheidsproblemen, sterfte, voerweigering, excessieve wateropname, storingen in ventilatie e.d. Van de gestorven dieren wordt de voeropname zo nauwkeurig mogelijk ingeschat met behulp van de volgende formule:

$$y = a * 0,35 + (b * c * 0,65)$$

waarin:

- y = geschatte voeropname gestorven dier
a = gemiddelde voeropname van de koppel
0,35 = onderhoudsfactor
b = (gewicht van het gestorven dier - begingewicht)
c = voerconversie van de koppel
0,65 = groeifactor

Als de gemiddelde voeropname, gewicht en voerconversie van de koppel niet bekend zijn worden voor het onderzochte merk de meest actuele gegevens van de fokkerijgroepering gebruikt m.b.t. de ontwikkeling van het levend gewicht per dag, de dagelijkse en cumulatieve voeropname en de cumulatieve voerconversie.

Wanneer zich tijdens de adaptatie-, voor- of hoofdperiode veterinaire problemen voordoen zal in de meeste gevallen de proef moeten worden afgebroken, en opnieuw moeten worden opgestart. Slechts in gevallen waarin het reëel is te veronderstellen dat na uitvoering van een veterinaire behandeling (op aanwijzing van een dierenarts) de proef een normaal verloop zal hebben, is voortzetting toegestaan.

6.2 Dieren

6.2.1 Algemeen:

In het proefplan wordt o.a. het aantal herhalingen (= kooien), het aantal dieren per herhaling, wijze van indelen in kooien en het merk aangegeven.

6.2.2 Merk:

Er dient gebruik te worden gemaakt van een gangbaar merk; het verdient aanbeveling als onderzoeksinstelling zoveel mogelijk met één en hetzelfde merk te werken.

² Naast accordering van het proefplan door één of meer instituutsmedewerkers, zal dit veelal ook door de opdrachtgever geschieden.

6.2.3 Sexe:

Vanwege de grotere kans op pootgebreken bij hanen, dient gebruik te worden gemaakt van hennen, ook al stellen hanen vanwege hun hogere groeipotentie mogelijk grotere eisen aan de verteerbaarheid van de nutriënten.

6.2.4 Indeling van de dieren in kooien:

- De dieren dienen evenredig naar gewicht over de kooien (= herhalingen) te worden verdeeld; daartoe verdient het sterke aanbeveling de dieren individueel te wegen, en in iedere kooi een gelijk aantal dieren van elke gewichtsklasse te plaatsen.
- Om te bereiken dat de tussendierverschillen statistisch voldoende uitmiddelen is een minimum aantal van 8 dieren/kooi tijdens de hoofdperiode noodzakelijk.
- De indeling dient plaats te vinden op dag 12 - 14.
- Het aantal herhalingen:
 - a. Bij behandelingen waarbij de dieren uitsluitend het basisrantsoen krijgen verstrekt, worden 4 herhalingen/groep ingezet.
 - b. Bij behandelingen waarbij de dieren uitsluitend proefrantsoenen krijgen verstrekt, worden minimaal 4 herhalingen/groep ingezet. Afhankelijk van de te verwachten spreiding op basis van het inmengingspercentage en de aard van het proefvoeder wordt het aantal herhalingen geschat dat nodig is om te voldoen aan de onder 4. genoemde precisiecriteria; daarbij kan worden geconcludeerd dat een groter aantal (bijv. 6) herhalingen nodig is.

6.3 Huisvesting

6.3.1 Aantal dieren per kooi:

Bij het bepalen van het maximum aantal dieren per kooi dient voldoende vloeroppervlak en voerbakbreedte in de kooien voor alle dieren gewaarborgd te zijn voor een onbelemmerde groei en welzijn. Tijdens de hoofdperiode dient, uitgaande van 8 dieren/kooi, het vloeroppervlak minimaal 450 cm² te zijn.

6.3.2 Lichtschema:

- In de adaptatieperiode vrij.
- In de voorperiode, waarin de dieren worden gewend aan het basis- of proefrantsoen, en in de hoofdperiode, waarin excreta worden verzameld en (na afronding van deze verzameling) tot aan het moment van euthanaseren, continu licht.
- Tijdens de hoofdperiode wordt het licht gedimd ter voorkoming van verenpikkerij e.d. tot een zodanige lichtintensiteit dat sprake is van een schemertoestand.

6.3.3 Temperatuur, luchtvochtigheid en ventilatie:

- De kooien dienen te zijn opgesteld in een goed geïsoleerde proefdierruimte met faciliteiten voor het adequaat reguleren van de temperatuur, de relatieve luchtvochtigheid en de luchtverversing.
- De temperatuur wordt in de proefdierruimte volgens een gebruikelijk temperatuurschema verlaagd van 33 °C bij het plaatsen van de eendagskuikens naar 21 °C op 4 weken leeftijd.
- De relatieve luchtvochtigheid wordt op minimaal 55 % gehouden.

6.3.4 Voerbak

Met het oog op het kwantitatief kunnen bepalen van de voeropname en het kunnen verzamelen van schone excreta dienen constructie en plaatsing van de voerbakken zodanig te zijn dat vrijwel geen voervermorsing plaatsvindt.

6.4 Rantsoenen

6.4.1 Definities

Startvoer

Hieronder wordt verstaan een voeder dat voorafgaande aan de voor- en hoofdperiode wordt verstrekt. Het dient van zodanige samenstelling te zijn dat het alle nutriëntbehoeften van de dieren dekt. Bij voorkeur komt het qua grondstoffsamenstelling (redelijk) overeen met het basisrantsoen.

Proefvoeder:

Het proefvoeder is het voeder(middel) waarvan de OE_N en nutriëntverteerbaarheid dient te worden vastgesteld. Een proefvoeder is in de meeste gevallen een enkelvoudig voedermiddel (vaak een mengvoergrondstof), maar kan in principe ook een mengvoer of andersoortig voermengsel zijn.

Proefrantsoen:

In veel gevallen is het niet mogelijk het proefvoeder enkelvoudig te verstrekken, omdat het niet wordt opgenomen of niet voldoet aan de in deze paragraaf (zie Tabel 1) gestelde (nutriënt)eisen. Daarom wordt het in de vorm van een proefrantsoen verstrekt; dit bestaat uit een bepaald percentage (X %) van een proefvoeder, aangevuld met een basisvoeder (100 - X %).

Hoewel het de voorkeur verdient alle noodzakelijke toevoegingen zoveel als mogelijk is in het basisvoer in te mengen, is het soms nodig via een apart aminozuur/mineralen-mengsel nog een bijstelling door te voeren in het gehalte van deze nutriënten. In de in dit protocol beschreven verteringsproef wordt geen studie gemaakt van de verteerbaarheid van de droge stof en/of de ruwe as. Door voor de aminozuren een 100 % verteerbaarheid aan te houden kan, zonder dat van dit aminozuur/mineralenmengsel apart de verteerbaarheid wordt bepaald, toch de verteerbaarheid van de OS en andere nutriënten volgens de hier beschreven indirecte methode worden vastgesteld. Het maximum aan aminozuren dat via een mengsel, als hier bedoeld, mag worden toegevoegd is 0,5 % van het rantsoen.

Het proefrantsoen wordt tijdens de voorperiode en hoofdperiode aan de dieren verstrekt.

Basisvoeder:

Een basisvoeder is een voer dat, naast een proefvoeder, als onderdeel van het proefrantsoen wordt verstrekt. Als regel is in het proefrantsoen slechts één basisvoer aanwezig. Dit is dan van zodanige samenstelling dat het enerzijds na menging met een proefvoeder een proefrantsoen oplevert dat voldoet aan de in Tabel 1 gestelde eisen, en anderzijds ook als zodanig aan deze eisen voldoet en als basisrantsoen kan worden verstrekt.

6.4.2 Proefvoeder

Een te onderzoeken proefvoeder kan door de opdrachtgever aan het onderzoeksinstituut worden aangeleverd, dan wel door het onderzoeksinstituut op verzoek van de opdrachtgever in de markt worden aangekocht. In het laatste geval dienen afspraken te worden gemaakt ten aanzien van de criteria waaraan de aan te kopen partij moet voldoen en een daarop uit te voeren kwaliteitscontrole.

Indien het te onderzoeken proefvoeder een partij van een enkelvoudig voedermiddel is, dient als regel aan de volgende eisen te worden voldaan:

- Bij microscopische analyse moet blijken dat de zuiverheid voldoet aan de criteria beschreven in de "Lijst van enkelvoudige diervoedergrondstoffen" (Centraal Veevoederbureau, 1994).
- Er dient gestreefd te worden naar de aankoop van een partij waarvan de herkomst (land, ras, aard van het productieproces e.d.) zo nauwkeurig mogelijk bekend is.
- Bij de standaard uit te voeren chemische analyses op een proefvoeder, zoals vermeld in tabel 2, moet blijken dat de te onderzoeken partij voldoet aan de veronderstelde criteria.

Afhankelijk van het te onderzoeken enkelvoudige voedermiddel en het doel van het onderzoek, kunnen aan het voedermiddel voor een goede karakterisering aanvullende (analytische) eisen worden gesteld (bijv. bepaling van de NSI = Nitrogen Solubility Index bij bepaalde eiwitrijke grondstoffen en analyse van ANF's bij vlinderbloemigen).

Voor de verwerking van het proefvoeder in het rantsoen wordt verwezen naar de paragrafen 6.4.4 en 6.4.5.

Van een proefvoeder worden (volgens de in 6.7.1 beschreven werkwijze) het gewenste aantal submonsters gemaakt voor analyses en bewaring. Er dienen minimaal 2 submonsters voor bewaring te worden gemaakt; bewaring dient zodanig plaats te vinden (in droge toestand via lucht-

of vriesdrogen, of diepgevroren) dat zich tot aan het moment van analyse geen veranderingen in de te analyseren componenten voordoen.

6.4.3 Basisvoeder(s)

- 6.4.3.1 Basisvoerders dienen eenvoudig van samenstelling en goed verteerbaar te zijn; ze dienen te zijn opgebouwd uit grondstoffen die voor pluimvee vrijwel geen anti-nutritionele eigenschappen bezitten. De samenstelling dient afhankelijk te zijn van het ruw eiwitgehalte van de proefvoerders. Uitgaande van één basisvoer in het proefrantsoen dient dit bij het onderzoeken van eiwitarme proefvoerders een eiwitgehalte van ca. 250 g/kg te hebben en bij het onderzoeken van eiwitrijke proefvoerders van ca. 200 g/kg. In principe dient te worden uitgegaan van de samenstellingen zoals die zijn toegepast bij het onderzoek beschreven in het ID-DLO/ILOB-TNO rapport No. 96.006 (Van der Klis e.a.; 1996). De voornaamste grondstoffen in het basisrantsoen dienen te zijn mais en sojabloem/sojaschroot (RC < 35 g/kg) (aangevuld met methionine) en -daaraan toegevoegd- enkele procenten van andere grondstoffen (diermeel, vismeel, tapioca, erwten, getoaste sojabonen). Als vetbron dient linolzuur-rijk vet te worden toegevoegd. Het gebruik van grondstoffen die anti-nutritionele eigenschappen bezitten waarvan vleeskuikens nadelige invloed ondervinden (bijv. gerst en tarwe) dienen niet in het basisvoer te worden opgenomen.
- 6.4.3.2 Aan het basisvoer dient, naast toevoeging van mineralen, een complete vitaminen- en spoorelementenpremix (d.w.z. ook folinezuur en biotine) te worden toegevoegd.
- 6.4.3.3 Teneinde te voorkomen dat bij bepaalde proefvoerders de proefrantsoenen (zeer) extreme gehalten aan bepaalde nutriënten bevatten, kan niet één bepaald basisvoer worden voorgeschreven. Afhankelijk van het proefvoeder kan o.a. het aandeel mais en soja in het basisvoer worden gevarieerd.

6.4.4 Rantsoenen

- 6.4.4.1.1 Een basisrantsoen bestaat uit als regel uit één basisvoeder. Een proefrantsoen bestaat als regel uit een bepaald percentage (X %) van het proefvoer en een bepaald percentage (100 - X %) basisvoeder.
- 6.4.4.2 Bij de formulering van een rantsoen wordt voor de berekening van de nutriëntgehalten uitgegaan van de waarden in de meest actuele versie van de Veevoedertabel. In het proefplan worden de voor het rantsoen berekende gehalten aan RE, RVET, RC, zetmeel, suikers en (voor zover mogelijk) OE_N vermeld.
- 6.4.4.3 Ter controle op de juistheid van de menging wordt geanalyseerd op de voor het betreffende rantsoen meest relevante componenten (veelal RE en P of -als dit om labtechnische overwegingen de voorkeur verdient- Ca). Voordat de proef wordt gestart dienen de berekende gehalten vergeleken te worden met de geanalyseerde gehalten. Het rantsoen (en -indien gewenst- het basisvoer en het proefvoeder) wordt opnieuw geanalyseerd, indien er grotere verschillen worden geconstateerd dan op grond van onnauwkeurigheden in de analysemethoden en de mengprocedure mogen worden verwacht. Indien het geconstateerde verschil bij een (eventueel meerdere keren herhaalde) heranalyse blijft bestaan, en geconcludeerd moet worden dat de bereiding van het rantsoen niet juist heeft plaatsgevonden, vindt bereiding van een nieuwe batch van het rantsoen plaats.
- 6.4.4.4 Het aandeel van het proefvoeder in het rantsoen dient enerzijds zodanig te zijn dat de OE_N en de verteerbaarheid van de te meten nutriënten zo nauwkeurig mogelijk kan worden vastgesteld, terwijl anderzijds geen negatieve effecten op opname, vertering en/of absorptie mogen optreden.
- 6.4.4.5 Globale richtlijn voor het inmengingspercentage van de proefvoerders:
- Granen en tapioca 40 %;
 - Peulvruchten 30 %;
 - Schroten 25 - 30 %;
 - Graanbijproducten 20 - (maximaal) 25 %;
 - Vismeele en diermeel 15 - 20 %;
 - Luzerne 15 - 20 %;

g. Vet: $\leq 8\%$

6.4.4.6 In sommige gevallen kan, gelet op de bevinding dat de OE_N van bepaalde proefvoerders afhankelijk was van het inmengingspercentage, overwogen worden verschillende inmengingspercentages te onderzoeken.

6.4.4.7 Nutriëntgehalten in het rantsoen:

De criteria waaraan rantsoenen dienen te voldoen staan vermeld in Tabel 1. Als in bepaalde gevallen noodgedwongen afgeweken moet worden van of niet voldaan kan worden aan deze eisen dient hiervan melding te worden gemaakt in het proefplan en de rapportage. Bij proefvoerders met extreem hoge gehalten aan een of meer nutrinten (bijv. Ca in diermeel) dient extra aandacht te worden gegeven aan de samenstelling van het proefvoer teneinde mogelijke negatieve effecten op de verteerbaarheid zoveel mogelijk te elimineren.

6.4.4.8 Aan de rantsoenen worden geen additieven behorend tot de categorieën A (antibiotica), D (coccidiostatica), K (groeibevorderende middelen), N (enzymen) en M (micro-organismen), zoals gespecificeerd in de Bijlagen bij Directive 70/524/EEC of the European Commission, toegevoegd.³ De redenen hiervoor zijn:

- a. Het is niet haalbaar om allemaal altijd dezelfde additieven toe te voegen;
- b. Het is ongewenst een tabel te baseren op een standaard toevoeging van één specifiek additief, o.a. vanwege het feit dat in de praktijk, ook binnen eenzelfde groep van additieven, regelmatig wisselingen worden doorgevoerd.;
- c. De effecten van additieven op de OE_N en nutriëntverteerbaarheid dienen afzonderlijk te worden aangetoond, teneinde bij een economische afweging tot het wel/niet gebruiken ervan -naast andere effecten- de (eventuele) effecten op de voederwaarde afzonderlijk te kunnen evalueren. Dit geldt ook de toevoeging van een enzym als fytase.

6.4.4.9 Proefvoerders, basisvoeder(s) en rantsoenen dienen onder geconditioneerde omstandigheden (bij voorkeur diepgevroren bij $\leq -20\text{ °C}$) te worden bewaard, zodanig dat de karakteristieken ervan niet worden aangetast.

³ Tegen het gebruik van een -eventueel via de premix toe te voegen- anti-oxidant bestaat geen bezwaar.

Tabel 1. Eisen met betrekking tot de berekende nutriëntgehalten van rantsoenen.

Parameter	Minimum	Maximum
RE (g/kg)	180	260
RVET (g/kg)	50	125
Linolzuur: absoluut (g/kg)	10	
als % van totaal RVET ¹⁾	17,5	
RC (g/kg)	-	-b)
Lys, Met + Cys, Thr, Trp en Ile	≥ 80 % van de behoeftenorm, zoals vermeld in Bijlage 1	
(Verteerbare) mineralen	minimaal 80 % en maximaal 200 % van de behoeftenorm (zie Bijlage 1) ²⁾ , met uitzondering van Na, waarvoor ter voorkoming van natte mest een maximum van 2,0 g/kg voer geldt	
Cation - Anion verschil; (K + Na - Cl) in meq/kg	150	350
Spoorelementen en vitamines	er dient minimaal te worden voldaan aan de behoeftenorm, zoals vermeld in Bijlage 1	

1): in verband met een optimale vetverteerbaarheid.

2): Om voor Ca en oP (= opneembaar fosfor) aan deze eis te voldoen, en tegelijkertijd de Ca/oP verhouding niet teveel te laten afwijken van de waarde 2,2 à 2,3, kan het in uitzonderingsgevallen nodig zijn dat aan het rantsoen ook bepaalde Ca- en/of P-zouten worden toegevoegd. Soms (bijv. diermeel, sommige rijstevoermelen e.d.) is het niet mogelijk gelijktijdig aan dit criterium en het in Bijlage 1 vermelde criterium m.b.t. Ca te voldoen.

6.4.5 Technologische behandeling van de rantsoenen:

6.4.5.1 Een zo goed mogelijke aansluiting bij wat in de praktijk het meest gangbaar is wordt wenselijk geacht.

6.4.5.2 Dit betekent dat de rantsoenen

- worden gemalen bij een maalfijnheid van (2,5 -) 3 mm;
- onder de volgende condities met stoom worden gepelleteerd: meeltemperatuur 75 °C, temperatuurstijging in de matrijs ca. 10 °C (met als maximum pellettemperatuur direct na het verlaten van de matrijs 90 °C) en een korreldiameter van 2,5 - 3 mm. In verband met zowel vermorsing als problemen met het verwijderen van de mestplaat wordt het gepelleteerde voer niet gekruimeld.⁴

⁴ De hardheid van de pellets van de in een proef te onderzoeken rantsoenen dient zodanig vergelijkbaar te zijn dat daardoor wordt voorkomen dat er verschillen optreden in voeropname tussen een proefrantsoen en een basisrantsoen. Wanneer aan dit criterium niet wordt voldaan, dient de proef te worden herhaald met opnieuw -onder aangepaste perscondities- geproduceerd voeder. Het geven van een objectief criterium voor de pelleshardheid is echter moeilijk te geven; bovendien worden pellets ook bij uitdroging -bijvoorbeeld in de voerbak- harder.

6.5 Voerverstrekking en drinkwater

6.5.1 Voerverstrekking

6.5.1.1 Tijdens de adaptatieperiode

- In deze periode wordt een startvoer aan de dieren verstrekt (zie paragraaf 6.4.1). Wanneer, gezien de eigenschappen van het proefvoeder, problemen worden verwacht bij de overgang van het startvoer op het proefrantsoen, kan het gewenst zijn in het startvoer al een bepaald percentage van het proefvoeder op te nemen.
- De dieren dienen *ad libitum* te worden gevoerd.

6.5.1.2 Tijdens de voor- en hoofdperiode

Het tijdens deze perioden te vervoederen rantsoen dient *ad libitum* te worden verstrekt, tenzij proefondervindelijk wordt aangetoond dat het toe te passen systeem van beperkte voeding tot hetzelfde resultaat leidt.

6.5.2 Drinkwater

6.5.2.1 De dieren moeten naar behoefte kunnen drinken.

6.5.2.2 Tijdens de hoofdperiode dient de wateropname te worden bepaald (evenals het DS-gehalte van de excreta). Als sterke afwijkingen worden geconstateerd van wat als normaal wordt beschouwd, dient hiermee bij de volgende proef rekening te worden gehouden.

6.6 Perioden

6.6.1 Definities

Adaptatie periode (Ap):

De periode die dient om de dieren te laten wennen aan veranderde huisvestingsomstandigheden.

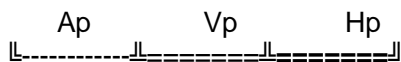
Voorperiode (Vp):

De periode die dient voor de overschakeling naar het te onderzoeken rantsoen en om de dieren verteringsfysiologisch in een steady state te brengen.

Hoofdperiode (Hp):

Dit is de periode waarin a) gedurende een bepaalde (sub)periode kwantitatieve verzameling van de excreta plaatsvindt

Schema met tijdbalk voor een verteringsproef.



6.6.2 Adaptatieperiode

De duur van de adaptatieperiode wordt bepaald door de duur van de voorperiode en de dagen waarop de hoofdperiode wordt gepland.

6.6.3 Voorperiode

Om de dieren te wennen aan het te onderzoeken rantsoen dient de voorperiode minimaal 7 dagen te duren; bij een aantal proefvoerders (o.a. raapzaad, tarwe en gerst) is een langere voorperiode gewenst.

6.6.4 Hoofdperiode

6.6.4.1 Bij de keuze van de hoofdperiode zijn betrokken:

- a. beperking van variatie in de OE_N en verteerbaarheid van de nutriënten als gevolg van een leeftijdsafhankelijkheid van de vertering;
- b. beperking van de potentiële verontreiniging van de excreta met (dons)veertjes en vermorst voer;
- c. de sterke relatieve toename in de dagelijkse voeropname tot een leeftijd van twee à drie weken;
- d. de afname in de relatieve tussendiervariatie in dagelijkse voeropname bij het ouder worden.

6.6.4.2 De hoofdperiode valt eventueel uiteen in een (sub)periode van kwantitatieve verzameling van de excreta, en een korte daarop aansluitende (sub)periode tot het moment van euthanaseren en verzamelen van de dunne darmchymus.

6.6.4.3 De (sub)periode van kwantitatieve verzameling van de excreta dient te vallen binnen de leeftijd van 23 - 29 dagen (= halverwege het mesttraject). Er wordt -hoewel de vetvertering bij oudere dieren wat hoger is- op dit punt geen uitzondering gemaakt voor vetrijke grondstoffen, tenzij het erom gaat hoe de leeftijdsafhankelijkheid van de vetvertering in de behoeftenormen moet worden verwerkt.

Op grond van de bevinding dat de uitscheiding van de excreta zeer gelijkmatig over de dag is verdeeld én de bevinding dat de feces die direct na een voeronthoudingsperiode wordt geproduceerd een hoger gehalte aan schijnbaar onverteerd eiwit bevat (v.d. Klis et al, 1996), is het inlassen van een voeronthoudingsperiode aan het begin en einde van de (sub)periode van kwantitatieve verzameling van de excreta niet wenselijk. Voor het op correcte wijze berekenen van de voer/excreta verhouding dient de voeropname (op basis van droge stof) in dit geval gemeten te worden over de periode van zes uur voor aanvang tot zes uur voor beëindiging van de periode waarin de excreta kwantitatief worden verzameld.

6.7 Verzameling, bewaring en bemonstering van proefvoerders, basisvoerders, rantsoenen en excreta

6.7.1 Bemonstering van proefvoerders, basisvoerders en rantsoenen

De bemonstering dient zodanig te geschieden dat aan het einde van het bemonsteringsproces voor de te bemonsteren proefvoerders, basisvoerders en rantsoenen een aantal representatieve en identieke submonsters voor analyse en bewaring zijn verkregen. Hoe men daarbij, om incidentele fouten in de monsternamen te traceren en/of te elimineren te werk gaat, behoort tot de verantwoordelijkheid van het instituut. In het proefplan dient nader te worden aangegeven hoe de bemonsteringsprocedure zal zijn.

Een rantsoen wordt bemonsterd door

- a) een (of een serie) representatief aantal deelmonsters te nemen,
- b) deze te combineren tot één (of een serie) verzamelmonster(s), en
- c) hieruit na goed homogeniseren het benodigde aantal identieke submonsters voor analyse en bewaring te nemen.

6.7.2 Verzameling, bewaring en bemonstering van excreta

6.7.2.1 Verzameling van de excreta:

Verwijdering van verontreinigingen uit excreta:

De excreta dienen goed te worden gereinigd van veertjes, voerdeeltjes e.d. Op grond van berekeningen kan gesteld worden dat een verontreiniging van ca. 1 % veren in de excreta een (absolute) verlaging van de RE-verteerbaarheid geeft van ca. 1,5 % en van de (fecale) cystine-verteerbaarheid van ca. 7 - 8 %.

Kwantitatieve verzameling:

Hoewel er m.b.t. zowel de kwantitatieve als de niet-kwantitatieve verzameling discussiepunten zijn, wordt op basis van tot nu toe verkregen onderzoeksresultaten (Van der Klis et al, 1996) in dit protocol gekozen voor een kwantitatieve verzameling van de excreta.⁵

Tijdstippen van verzameling:

- De excreta worden over een aaneengesloten periode van 4 x 24 uur kwantitatief verzameld. Gedurende de dagperiode (8 uur) worden de excreta eens per vier uur kwantitatief verzameld. De gedurende de dagperioden verzamelde excreta zullen worden gebruikt voor de analyses ter vaststelling van de OE_N en fecale verteerbaarheid van bepaalde nutriënten. Daarnaast worden de excreta gedurende de nachtperiode (16 uur) kwantitatief verzameld ten behoeve van het berekenen van de excreta-voer verhouding.
- Van zowel de "nacht-" als de "dagexcreta" wordt de hoeveelheid bepaald. De "dagexcreta" wordt gebruikt voor de analyses. In de "nachtexcreta" dient in elk geval het droge stofgehalte te worden bepaald.

Opslag en voorbereiding van de excreta:

Na van verontreinigingen te zijn ontdaan, worden de excreta gewogen, en zonder conserveerstoffen (tenzij dit in het proefplan anders is aangegeven) bij ≤ -18 °C bewaard.

6.7.2.3 Bemonstering excreta

De excreta worden per herhaling bemonsterd.

Na afloop van de proef worden de excreta ontdooid. Daarbij wordt er zorg voor gedragen dat de temperatuur niet boven 10°C komt (laatste deel van het ontdooiingsproces vindt daartoe bij voorkeur plaats in de koelkast). Na ontdooien worden de "natte" excreta (= mest direct voor vriesdrogen) van iedere herhaling goed gehomogeniseerd; daarna wordt het benodigde aantal identieke submonsters genomen voor analyse en bewaring.

Voor de submonsters excreta voor analyse geldt het volgende:

- Eén of meer submonsters "natte" excreta voor analyse op vocht (en in bepaalde gevallen VFA);⁶
- Eén of meer submonsters waarin na vriesdrogen en malen (1 mm zeef laboratoriummolen) de overige analyses worden uitgevoerd.

⁵ Als een onderzoekinstelling voor een aantal situaties die representatief zijn voor de in de praktijk voorkomende variatie overtuigend kan aantonen dat de niet-kwantitatieve verzameling (met indicator) geen systematische afwijkingen geeft ten opzichte van de kwantitatieve verzamelingsmethode en tevens aan de precisiecriteria van dit protocol wordt voldaan, is ook de niet-kwantitatieve methode toegestaan.

⁶ In proeven met een aantal representatieve rantsoenen zullen de VFA worden bepaald; voor wat betreft het protocol is de VFA-bepaling voorshands optioneel.

Tabel 2. Standaard in proefvoeder, basisvoeder en excreta uit te voeren analyses.

Parameter	Proefvoeder en basisvoeder	(natte/droge) Excreta ¹⁾	Analysemethode
Bruto energie	X	X ^d	M.b.v. een bomcalorimeter volgens ISO 9831
Vocht	X	X ^{n,d}	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 ^d	Residu na 3 uur verassen bij 550°C (ISO 5984, NEN 3329)
RE	X	X ^d	totaal-N vlg. Dumas-methode (Merz, W.; 1968)/N vlg. Kjeldahl (ISO 5985, NEN 3330); beide vermenigvuldigd met 6,25
RVET	X	X ^d	Extractie met petroleümether (NEN 3148, ISO 6492) na voorafgaande hydrolyse met HCl (EEG richtlijn nr. 84/4)
RC	X	X ^d	Gloeiverlies bij 550°C na koken met verdund H ₂ SO ₄ en verdunde KOH (NEN 5415; indien nodig ISO 6451)
Zetmeel (Ewers) ²⁾	X		Polarimetrisch van zetmeel in het 40 % ethanol precipitaat volgens Ewers (NEN 3572)
Zetmeel (Enzymatisch) ²⁾	X	(X)	Kwantitatieve bepaling van glucose na volledige hydrolyse van zetmeel in het 40 % ethanol precipitaat met amyloglucosidase (NEN 3574)
Bruto Suiker	X		Reducerende suikers na inversie, volgens Luff Schoorl (NEN 3571)
Oplosbaar zetmeel	X		Oplosbaar zetmeel = a - b a. Kwantitatieve bepaling van bruto suiker na 1) volledige hydrolyse van zetmeel in de 40 % ethanol oplosbare fractie met amyloglucosidase (NEN 3574) en 2) na inversie, volgens Luff Schoorl b. Standaard bruto suikerbepaling
Onoplosbaar fecaal N		X ^d	Zie Bijlage 2, gebaseerd op Rapport ID-Lelystad no. 2054
Oplosbaar totaal α-amino N		X ^d	Zie Bijlage 2, gebaseerd op Rapport ID-Lelystad no. 2054
NH ₃		X ^d	Boehringer Mannheim Methods of Enzymatic BioAnalysis and Food Analysis; Ammonia Testkit, cat. no. 1112732; beschrijving t.b.v. "bakery products" Zie verder Bijlage 2.

¹⁾: n = in natte excreta; d = in droge (= gevriesdroogde) excreta.

²⁾: Afhankelijk van het proefvoeder (zie meest recente editie van de Veevoedertabel, CVB); in veel gevallen is het zinvol het gehalte volgens beide methoden te bepalen. Wanneer de verteerbaarheid van zetmeel wordt onderzocht dient het zetmeel in voeders en excreta enzymatisch te worden geanalyseerd.

6.8 Laboratoriumanalyses in de rantsoenen, proefvoeder(s), basisvoeder(s) en excreta

De in het rantsoen, proefvoeder(s), basisvoeder, excreta standaard uit te voeren analyses staan (met de daarbij te gebruiken methode) vermeld in Tabel 2.

Eventueel extra uit te voeren analyses worden in het proefplan van de betreffende proef aangegeven. Voor wat betreft eventuele extra analyses in het proefvoeder wordt ook verwezen naar paragraaf 6.4.2.

In proefvoeder en basisvoeder(s) worden de analyses (minimaal) in tweevoud uitgevoerd, hetzij door simpto analyses in duplo submonsters, hetzij door duplo analyses in één submonster te doen. In de rantsoenen worden voor de start van de proef ter controle op de menging enkele relevante analyses uitgevoerd (zie paragraaf 6.4.4).

De excreta worden per behandeling op dezelfde wijze geanalyseerd; wanneer bepaalde analyses in enkelvoud worden uitgevoerd, wordt dit in het proefplan aangegeven.

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 een andere certificering te gelden.

7. RESULTATEN

7.1 Berekeningsmethoden voor de OE_N waarde van grondstoffen (OE gecorrigeerd voor N- evenwicht) en verteerbaarheden van nutriënten

De berekening van waarden voor basisrantsoen en proefrantsoen is onderstaand beschreven. Op basis van de mengverhouding (% basisvoeder(s) en % proefvoer) in de proefrantsoenen kunnen de OE waarde en nutriëntverteerbaarheden voor het proefvoer worden afgeleid.

7.1.1 OE_N waarde

$$OE_N = \text{Verbrandingswaarde}_{\text{rantsoen}} - \text{excreta/voerverhouding} * \text{verbrandingswaarde}_{\text{excreta}} - N_{\text{correctie}}$$

$$N_{\text{correctie}} = 36,53 \text{ J/g urine N} * (N_{\text{rantsoen}} - \text{excreta/voerverhouding} * N_{\text{excreta}})$$

waarin

- N_{rantsoen} en N_{excreta} in g/kg;
- urine N = $N_{\text{excreta}} - N_{\text{fecaal}}$, waarbij
N-fecaal = onoplosbaar fecaal N + oplosbaar fecaal N
beide te bepalen volgens het analysevoorschrift in Bijlage 2 bij deze notitie

Opmerking: De OE_N kan zowel worden bepaald (bomcalorimetrisch) als berekend. Berekening kan plaatsvinden met onderstaande formule als de verteerbaarheid van de nutriënten bekend is. Dit betekent dat vergelijking van de berekende OE_N een controle-mogelijkheid geeft op de juistheid van de N_{urine} correctie.

$$OE_{N/\text{rantsoen}} \text{ (berekend) (MJ/kg)} = 18,03 * \text{VRE} + 38,83 * \text{VRVET} + 17,32 * \text{VKH}/1000$$

waarbij VRE en VRVET op fecaal niveau worden bepaald, terwijl VKH een berekende waarde is (zie Bijlage 3).

7.1.2 Nutriëntverteerbaarheden

Van de volgende nutriënten dient standaard de verteerbaarheid te worden bepaald: OS, RE, en RVET. De verteerbaarheid van KH (koolhydraten) en OOS (overige organische stof) kan worden berekend als de eerder genoemde verteerbaarheden bekend zijn. Bepaling van de verteerbaarheid van NSP (= niet zetmeel koolhydraten), gebaseerd op NSP-analyses volgens het NSP-protocol, is optioneel.

De fecale verteerbaarheid van de nutriënten in de rantsoenen wordt berekend op basis van

- a. de kwantitatieve hoeveelheden die gedurende de hoofdperiode via het voer worden opgenomen en via de feces worden uitgescheiden, dan wel

- b. de gehalten in voer en feces en de verhouding van de droge stof in feces en voer; deze laatste wordt afgeleid uit de kwantitatieve uitscheiding via de feces en de kwantitatieve opname via het voer gedurende de hoofdperiode.

Wanneer van proef- en basisrantsoenen de fecale aminozuurverteerbaarheid wordt bepaald, kan de fecale RE-verteerbaarheid tevens berekend worden op basis van de aminozuurverteerbaarheid, mits in voer en excreta alle aminozuren worden geanalyseerd en de hoeveelheid in de excreta geanalyseerde glycine wordt gecorrigeerd voor de hoeveelheid afkomstig uit de ontleding van urinezuur.

Nadat de verteerbaarheden per herhaling zijn berekend wordt vervolgens per nutriënt per rantsoen het gemiddelde, de SD en de SEM bepaald.

Bij de indirecte methode, waarvan in de hier beschreven proeven veelal sprake is (zie paragraaf 3), worden de VC's van de diverse nutriënten in het proefvoeder via verschilberekening uit de VC's van proefrantsoenen en basisrantsoenen berekend. Daarbij wordt, om de VC's van het proefvoeder per herhaling te kunnen berekenen, gerekend met de VC's van het proefrantsoen bij de betreffende herhaling en de gemiddelde VC's van het basisrantsoen.

Vervolgens wordt per nutriënt in het proefvoeder de gemiddelde VC berekend. Om zicht te krijgen op de nauwkeurigheid van de gemiddelde waarde wordt ook, hoewel dit in het kader van het vaststellen van een tabelwaarde minder relevant is, de SD berekend. De wijze van berekenen van deze SD dient in het protocol en het verslag te worden vermeld.

7.2 Beoordeling resultaten

7.2.1 Beoordeling van de kwaliteit van de proef

De kwaliteit van de proef wordt getoetst aan de criteria vermeld in paragraaf 4.

Opmerking: In verband met nauwkeurigheid en vergelijkbaarheid wordt aanbevolen dat de instituten die binnen Nederland het in dit protocol beschreven onderzoek uitvoeren, met enige regelmaat onderling methodieken afstemmen en daarover rapporteren.

7.2.2 Uitbijtertest

Uitbijters zijn in elk geval waarnemingen van herhalingen waarvan tijdens de proef al duidelijk was dat dieren van deze herhalingen een zodanig afwijkend gedrag, voeropname, uitscheiding van excreta e.d. lieten zien dat hiervan een effect op de verteerbaarheid kan worden verondersteld. Alle gegevens van dergelijke herhalingen worden dan als uitbijters aangemerkt.

De (definitieve) uitbijtertest vindt plaats na algehele controle en eventuele heranalyse van "verdachte" analyseresultaten.

Om vast te stellen of een herhaling wellicht als uitbijter moet worden aangemerkt, vindt toetsing van de waarnemingen plaats op basis van de verteerbaarheid van de organische stof van het rantsoen. Als daarbij blijkt dat een herhaling een uitbijter is, worden alle waarnemingen van deze herhaling als uitbijters beschouwd en buiten verdere berekeningen gelaten.

Een herhaling wordt als uitbijter aangemerkt wanneer VC-OS valt buiten de range $VC-OS_{\text{gemiddeld}} \pm 2,5 * SD_{\text{ref}}$, waarbij SD_{ref} = de standaard deviatie van de VC-OS van een aantal eerder door het betreffende instituut uitgevoerde proeven.

Aangezien SD_{ref} per instituut kan variëren dient de door een instituut te hanteren SD_{ref} te worden vermeld in het proefplan en de rapportage.

In de rapportage wordt vermeld wanneer op basis van dit criterium een herhaling als uitbijter wordt geëlimineerd. Hoewel vermelding van de gemiddelde waarde en de SD inclusief de uitbijter kan plaatsvinden (en wellicht gewenst is), dient in dit geval de SD **exclusief** de uitbijter als de meest juiste te worden aangemerkt.

Daarna wordt getoetst of bepaalde VC's van andere nutriënten uitbijters zijn. Dit is het geval als de VC van een nutriënt valt buiten de range " $VC_{\text{gemiddeld}}$ voor deze nutriënt $\pm 2,5 * SD_{\text{ref}}$ ", waarbij SD_{ref} = de standaard deviatie van de VC van de betreffende nutriënt zoals gemeten in een aantal eerder door het betreffende instituut uitgevoerde proeven. Nu geldt echter dat alleen de waarneming, die een uitbijter is, wordt weggelaten en niet de herhaling als zodanig.

7.3 Weergave resultaten, rapportage

7.3.1 Rapportage

Tenzij met de opdrachtgever anders wordt overeengekomen kan volstaan worden met een beknopte rapportage volgens een standaard format (hoofdstukindeling, tabellen e.d.).

In de rapportage van een bepaling van de OE_N en de (schijnbare) nutriëntverteerbaarheid van een proefvoeder bij vleeskuikens worden de volgende resultaten opgenomen:

- Karakterisering en analyseresultaten van het onderzochte proefvoeder (zie paragraaf 6.4)
- Procentuele grondstofsamenstelling en resultaten van uitgevoerde analyses van rantsoenen en basisvoeder(s).
De bepaalde chemische gehalten van proefvoer en rantsoen worden vermeld in g/kg DS (mineralen en aminozuren met één decimaal; overige zonder decimalen)
- Over de voor- en de hoofdperiode dienen de voeropname en de groei te worden vermeld. Tevens dient de wateropname tijdens de hoofdperiode te worden vermeld, evenals de water/voer verhouding. Deze parameters zijn belangrijke indicaties om aan te geven hoe de dieren hebben gefunctioneerd.
- Gemiddelde waarden van de VC's van de onderzochte nutriënten in het rantsoen met de SD en het aantal herhalingen (n).
- Gemiddelde waarden (+ de SD) van de VC's in procenteenheden van elke onderzochte nutriënt van het proefvoeder (tot op één decimaal nauwkeurig).
- Overige zaken waarvan dit protocol aangeeft dat ze in de rapportage dienen te worden opgenomen.
- Opmerkingen ten aanzien van het verloop van de proef en eventuele bijzonderheden (waaronder een verklaring voor eventuele uitbijters) (zie paragraaf 7.2.2).

8. BEWARING

Alle op papier vastgelegde gegevens van een proef worden met het proefplan centraal bewaard gedurende tenminste 5 jaar.

Luchtdroge bewaarmonsters van proefvoeder(s), basisvoeder(s), rantsoenen en (per herhaling) de luchtdroge monsters van de excreta worden gedurende minimaal 5 jaar bewaard. Bewaarmonsters "natte" excreta kunnen worden opgeruimd zodra de opdrachtgever accoord is gegaan met de onder 7.3.1 genoemde rapportage; tot dat moment worden de monsters afgesloten bij $\leq -25^{\circ}\text{C}$ bewaard. (zie ook paragraaf 6.4.2, 6.7.1 en 6.7.2).

9. REGISTRATIE

De proeven worden bij de verschillende onderzoekinstellingen centraal in een databank geregistreerd.

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

10. LITERATUUR

De Jonge, L. H., A. K. Wissink en H. A. J. Versteegh, 2000. Validatiestudie van de bepaling van faecaal stikstof in pluimveemest volgens de gemodificeerde Terpstra-methode. Rapport ID-Lelystad no. 2054.

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

Leeuwen, P. van, G.B. Derksen, J. Huisman, P. Slump, E.J. van Weerden. 1987. Darm- en mestverteerbaarheid van eiwit en aminozuren bij varkens (Deel II, Statistische evaluatie). ILOB rapport 594.

The Nutrient requirements of poultry, National Research Council, Washington D.C., 1994.

Schutte, J. B. in "Aminozuurbehoeften van leghennen en vleeskuikens", CVB-documentatierapport nr. 18, december 1996.

Van der Klis, J. D., C. Kwakernaak, J. B. Schutte en G. M. Beelen. 1996. De OE-waarde en nutriëntverteerbaarheden van grondstoffen, bepaald volgens een nieuw OE-protocol bij vleeskuikens. Gezamenlijk rapport ID-DLO en ILOB-TNO; ID-DLO rapport No. 96.006.

Veevoedertabel. 1995. Uitgave: Centraal Veevoederbureau, Lelystad.

Bijlage 1

Waarden voor de behoefte van vleeskuikens aan aminozuren, mineralen, sporelementen en vitaminen, zoals dienen te worden aangehouden in proeven waarin de OE_N en de verteerbaarheid van nutriënten van voedermiddelen voor vleeskuikens worden bepaald.

Aminozuurbehoefte

Aminozuur	Behoefte (g schijnbaar fecaal verteerbaar aminozuur/kg) ¹	Relatief t.o.v. lysine
Lysine	10,2	100
Methionine ²⁾	3,9	38
Methionine + Cystine ²⁾	7,4	73
Valine	8,2	80
Arginine	10,7	105
Isoleucine	6,7	66
Threonine	6,6	65
Tryptofaan	1,6	65

¹⁾: Ontleend aan Schutte (1996); genoemde waarden gelden voor dieren van 2 - 4 weken leeftijd en een voer met een OE_{sk} waarde van 12,55 MJ/kg.

²⁾: De behoefte voor het bereiken van de minimale voerconversie en het maximale percentage borstvlies ligt iets hoger dan de vermelde behoefte.

Gehalten aan mineralen en sporelementen

Mineraal	Gehalte per kg voer	
Ca	7,2 ¹⁾	g
oP	3,2	g
Mg	0,6	g
Na	1,5	g
K	3,0	g
Cl	1,5	g
Sporelement	Minimum gehalte per kg voer ²⁾	
Fe	40	mg
Cu	10	mg
Zn	40	mg
Mn	60	mg
I	0,35	mg
Se	0,10	mg

¹⁾: De waarden voor de behoefte aan Ca en oP (= opneembaar fosfor) zijn ontleend aan de publikatie "Voorlopig systeem opneembaar fosfor pluimvee", CVB-reeks nr. 16, september 1994, Centraal Veevoederbureau, Lelystad. Het vermelde Ca gehalte is gebaseerd op een Ca/oP verhouding van 2,2 à 2,3.

²⁾: Voor het vaststellen van deze minimumgehalten heeft de publikatie "Nutrient Requirements of Poultry" van de National Research Council, USA, 9th revised edition (1994) als uitgangspunt gediend, en zijn (m.u.v. Fe: 40 i.p.v. 80 mg/kg; Cu: 10 i.p.v. 8 mg/kg; Se: 0,10 i.p.v. 0,15 mg/kg) de daar aanbevolen minimumgehalten voor vleeskuikens van 3 - 6 weken leeftijd aangehouden.

Minimumgehalten aan vitaminen

Vitamine	Minimumgehalte per kg voer ¹⁾	
Vit. A	1.500	IU
Vit. D ₃	200	ICU
Vit. E	10	IU
Vit. K	0,5	mg
Vit. B1 (thiamine)	1,8	mg
Vit. B2 (riboflavine)	3,6	mg
Vit. B6 (pyridoxine)	3,5	mg
Niacine	30	mg
d-Pantotheenzuur	10	mg
Folinezuur	0,55	mg
Vit. B12 (cobalamine)	0,01	mg
Biotine	0,15	mg
Choline	1000	mg

¹⁾: Deze minimumgehalten zijn ontleend aan de "Nutrient Requirements of Poultry" van de National Research Council, USA, 9th revised edition (1994) en zijn de daar aanbevolen minimumgehalten voor vleeskuikens van 3 - 6 weken leeftijd.

Bijlage 2: Protocol voor de bepaling van fecaal stikstof in pluimveemest volgens de gemodificeerde Terpstra methode

1. Doel en Toepassingsgebied:

De bepaling van het fecaal stikstof in pluimveemest.

2. Definitie / toelichting:

Fecaal stikstof wordt gedefinieerd als de hoeveelheid in eiwit en aminozuren gebonden stikstof in pluimveemest. Deze definitie is noodzakelijk om in de pluimveemest een onderscheid te kunnen maken tussen de stikstof afkomstig vanuit de feces en vanuit de urine. Bij deze definitie wordt aangenomen dat alle eiwitten en aminozuren van fecale oorsprong zijn en alle andere stikstofhoudende verbindingen (urinezuur, ureum, ammoniak e.d.) afkomstig zijn vanuit de urine.

3. Principe:

Aan pluimveemonsters wordt een formaldehyde bevattende acetaatbuffer, pH 4,7, en vervolgens een loodacetaat oplossing toegevoegd. Bij deze pH slaat het merendeel van de aanwezige eiwitten neer, terwijl de aanwezige formaldehyde een oplosbaar complex met het urinezuur vormt. Na 24 uur wordt het neerslag via filtratie van de vloeistof gescheiden.

In het neerslag wordt via de Kjeldahl methode het gehalte aan stikstof bepaald; dit representeert de hoeveelheid onoplosbaar fecaal stikstof.

In de filtratievloeistof wordt zowel het gehalte aan α -aminostikstof, via een ninhydrine kleuring, als het gehalte aan ammoniakstikstof, via een enzymatische methode, bepaald. Het verschil tussen beide gehalten is de hoeveelheid oplosbaar fecaal stikstof (vnl. aanwezig in aminozuren en peptiden).

Het gehalte aan fecaal stikstof is de som van de gehalten aan onoplosbaar en oplosbaar fecaal stikstof.

4. Benodigdheden:

4.1 Verbruiksmateriaal:

Alle reagentia dienen van pro analysekwaliteit te zijn.

Het gebruikte water dient gedemineraliseerd water te zijn (soortelijke weerstand $\geq 0,1 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, soortelijke geleidbaarheid $\leq 10 \mu\text{S}/\text{cm}$), of water van gelijke kwaliteit te zijn.

4.1.1 Natriumacetaat (watervrij), $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$

4.1.2 Azijnzuur (100%), CH_3COOH

4.1.3 Formaldehyde (35%), CH_2O

4.1.4 Loodacetaat ($3\text{H}_2\text{O}$), $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Pb}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$

4.1.5 Ethanol (96%), $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$

4.1.6 Oplossing 1: acetaatbuffer (pH 4,7) met formaldehyde.

Los 8,2 g natriumacetaat (4.1.1), 6,0 g azijnzuur (4.1.2), en 50 ml formaldehyde (4.1.3) op in water en vul aan tot 1000 ml.

4.1.7 Oplossing 2: loodacetaatreagens.

Los 100 g loodacetaat (4.1.4) op in 800 ml water en voeg 50 ml formaldehyde (4.1.3) toe, breng met azijnzuur (4.1.2) op pH 4,7 en vul aan met water tot 1000 ml.

4.1.8 Oplossing 3: ethanol-formaldehyde oplossing.

Meng 950 ml ethanol (4.1.5) met 50 ml formaldehyde (4.1.3)

4.1.9 Oplossing 4: wasvloeistof.

Meng 500 ml oplossing 1 (4.1.6) met 100 ml Oplossing 2 (4.1.7) en 500 ml Oplossing 3 (4.1.8).

4.1.10 Ninhydrin reagent kit (Pharmacia, artikel no. 80-2038-07).

4.1.11 Zoutzuur 0,1 M

- 4.1.12 Zoutzuur 4 M
- 4.1.13 L-leucine (Sigma, no. L-8000)
- 4.1.14 α -aminostikstof stockoplossing, 100 mM
Weeg exact 65,6 mg L-leucine (4.1.13) af en voeg exact 5 ml 0,1 M zoutzuur (4.1.11) toe.
Los op en homogeniseer de oplossing.
- 4.1.15 α -aminostikstof standaardoplossingen: 0,0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50 en 1,75 mM
Verdun de α -aminostikstof stockoplossing (4.1.14) met de oplossing van de blanco (5.3.9) tot de bovenstaande verdunningen.
- 4.1.16 Ninhydrineoplossing.
Maak de ninhydrineoplossing uit de kit (4.1.10) volgens het bijgesloten voorschrift.
- 4.1.17 Natriumhydroxide
- 4.1.18 Tri-ethanol-amine hydrochloride, $C_6H_{15}NO_3.HCl$
Boehringer Mannheim, Catno. 127426.
- 4.1.19 2-oxo-glutaraat (keto-glutaraat), dinatriumzout, $C_5H_4O_5Na_2.2H_2O$,
Boehringer Mannheim, Catno. 127205.
- 4.1.20 β -Nicotinamide-adenine dinucleotide, gereduceerd, dinatriumzout, Grad II, ca 8 %, NADH,
Boehringer Mannheim, Catno. 128023.
- 4.1.21 Natriumwaterstofcarbonaat, $NaHCO_3$
- 4.1.22 Glutamaat-dehydrogenase, from beef liver, ca 120 Ug/ml, GLDH,
Boehringer Mannheim, Catno. 737119.
- 4.1.23 Ammoniumsulfaat, $(NH_4)_2SO_4$
- 4.1.24 Natriumhydroxide, 5 mol/l
Los 20 g natriumhydroxide (4.1.17) op in 70 ml water, koel af, breng over in een maatkolf van 100 ml en vul aan met water.
- 4.1.25 Tri-ethanol-amine bufferoplossing met 2-oxo-glutaraat
Los 9,3 g tri-ethanol-amine hydrochloride (4.1.18) en 670 mg 2-oxo-glutaraat (4.1.19) op in 70 ml water. Breng de oplossing met 5 M natriumhydroxide (4.1.24) op pH 8,6 en breng over in een maatkolf van 100 ml en vul aan met water.
- 4.1.26 NADH-oplossing
Los 40 mg β -nicotinamide-adenine dinucleotide (4.1.20) en 80 mg natriumwaterstofcarbonaat (4.1.21) op in 100 ml tri-ethanol-amine bufferoplossing met 2-oxo-glutaraat (4.1.25).
- 4.1.27 Ammoniakstikstof stockoplossing, 500 mmol/l
Weeg 3,30 g ammoniumsulfaat (4.1.23) op 1 mg nauwkeurig af en breng kwantitatief over in een maatkolf van 100 ml. Vul aan met water en homogeniseer.
- 4.1.28 Ammoniakstikstof standaardoplossing, 25 mM
Verdun 0,25 ml ammoniak standaardoplossing (4.1.27) met 4,75 ml oplossing van de blanco (5.3.9) en homogeniseer.
- 4.1.29 Ammoniakstikstof standaardoplossingen: 0,00; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 en 1,00 mM.
Verdun de ammoniak standaardoplossing (4.1.28) met de oplossing van de blanco (5.3.9) tot de bovenstaande concentraties.
Homogeniseer de oplossingen.

4.2 Gebruiksmaterialen.

Gebruikelijk laboratoriumglaswerk en hulpmiddelen, in het bijzonder:

- 4.2.1 pH-meter, geijkt voor gebruik.
- 4.2.2 Plastic centrifugebuizen van 50 ml inhoud met maatverdeling en afsluitbaar met schroefdop.
- 4.2.3 Vacuümdroogstoof, instelbaar op 60 à 80 °C
- 4.2.4 Kjeldahl-apparatuur
- 4.2.5 Spectrofotometer met variabele golflengte instelling

5. Werkwijze.

5.1 Voorzorgsmaatregelen:

Werk zoveel mogelijk in zuurkast vanwege de vorming van formaldehydedampen.

5.2 Monstervoorbereiding

De monsters moeten uit gevriesdroogd materiaal bestaan.

5.3 Uitvoering bepaling.

Vorbewerking

- 5.3.1 Weeg circa 0,3 g monstermateriaal op 0,1 mg nauwkeurig af in de centrifugebuis. Neem per serie twee blanco-bepalingen mee.
- 5.3.2 Voeg per buis 25 ml oplossing 1 (4.1.6) toe en meng krachtig. Plaats de buizen gedurende 20 minuten in het kokend waterbad onder regelmatig schudden.
- 5.3.3 Buizen uit het waterbad halen en in zuurkast 6,3 ml oplossing 2 (4.1.7) toevoegen. Meng krachtig. Buizen gedurende 10 minuten weer in het kokende waterbad plaatsen onder regelmatig schudden.
- 5.3.4 Buizen na afkoelen aanvullen tot 50 ml met oplossing 3 (4.1.8), krachtig mengen en de nacht over laten staan.
- 5.3.5 Vouw en plaats de papieren filters in de trechters. Plaats de trechters met de filters zodanig in de houders dat het uiteinde van de trechterbuis in de hals van een 100 ml maatkolf steekt.
- 5.3.6 Breng nu per buis de bovenstaande vloeistof voorzichtig op het filter. Als de meeste vloeistof is doorgelopen wordt het neerslag op het filter gebracht.
- 5.3.7 Was het neerslag op het filter na met 35 ml wasvloeistof (4.1.9).
- 5.3.8 Als alle vloeistof is doorgelopen wordt het filter met het neerslag uit de trechter verwijderd, met behulp van een paperclip gefixeerd en op een genummerd horlogeglas bewaard.
- 5.3.9 Vul de maatkolfjes aan tot de maatstreep met 4 M HCl (4.1.12) en meng. In deze oplossingen worden de bepalingen van α -aminostikstof en ammoniakstikstof uitgevoerd. Gebruik de oplossingen van de blanco's voor verdunning van α -aminostikstof- (4.1.15) en ammoniakstandaarden (4.1.29).
- 5.3.10 Laat de filters met inhoud op het horlogeglas een nacht aan de lucht drogen in een zuurkast; en droog ze de volgende dag gedurende twee uur in een vacuümdroogstoof bij een temperatuur van 60 (of 80) °C onder volledig vacuüm.

Bepaling van onoplosbaar fecaal stikstof

- 5.3.11 Verwijder de paperclips en analyseer de hoeveelheid onoplosbaar fecaal stikstof in het residu volgens de standaard Kjeldahl methode.
Verhoog hierbij tijdens de destructie de hoeveelheid geconcentreerd zwavelzuur van 25 ml naar 35 ml i.v.m. de aanwezigheid van het papieren filter. De temperatuur van het destructieblok dient gefaseerd te worden opgevoerd i.v.m. eventuele schuimvorming of overkoken tijdens het begin van de destructie.

Bepaling van α -aminostikstof

- 5.3.12 Verdun 0,50 ml van de oplossingen (5.3.9) met 2,50 ml ninhydrine oplossing (4.1.16) in een centrifugebuis en meng zorgvuldig met de reageerbuis mixer.
- 5.3.13 Verdun 0,50 ml van de α -aminostikstof standaardoplossingen (4.1.15) met 2,50 ml ninhydrine oplossing (4.1.16) in een centrifugebuis en meng zorgvuldig met de reageerbuis mixer.
- 5.3.14 Plaats de monsters 60 minuten in een waterbad van 100°C.
- 5.3.15 Laat de centrifugebuis met inhoud afkoelen tot kamertemperatuur.
- 5.3.16 Meng zorgvuldig en breng de inhoud over in een wegwerpcuvet.
- 5.3.17 Meet achtereenvolgens de extincties van de standaardoplossingen en van de monsters met de spectrofotometer bij 570 nm.

Bepaling van ammoniakstikstof

Blancometing

- 5.3.18 In een reageerbuis waarin zich 0,75 ml NADH-oplossing (4.1.26) bevindt, wordt 0,15 ml oplossing (5.3.9) en 1,50 ml water toegevoegd waarna het mengsel wordt gehomogeniseerd.
- 5.3.19 In een reageerbuis waarin zich 0,75 ml NADH-oplossing (4.1.26) bevindt, wordt 0,15 ml ammoniakstikstof standaardoplossingen (4.1.29) en 1,50 ml water toegevoegd waarna het mengsel wordt gehomogeniseerd.
- 5.3.20 Incubeer de oplossingen minimaal 5 minuten bij kamertemperatuur.
- 5.3.21 Meet de extincties van deze blanco ammoniakstikstof standaardoplossingen en deze blanco monsters met een spectrofotometer bij 340 nm.

Gehaltemeting

- 5.3.22 In een reageerbuis waarin zich 0,75 ml NADH-oplossing (4.1.26) bevindt, wordt 0,15 ml oplossing (5.3.9) en 1,50 ml water toegevoegd waarna het mengsel wordt gehomogeniseerd.
- 5.3.23 In een reageerbuis waarin zich 0,75 ml NADH-oplossing (4.1.26) bevindt, wordt 0,15 ml ammoniakstikstof standaardoplossingen (4.1.29) en 1,50 ml water toegevoegd waarna het mengsel wordt gehomogeniseerd.
- 5.3.24 Incubeer de oplossingen minimaal 5 minuten bij kamertemperatuur.
- 5.3.25 Verdun de glutamaat-dehydrogenase (4.1.22) 1 op 1 met water en homogeniseer. Voeg aan alle oplossingen 0,02 ml van deze verdunde oplossing toe en meng zorgvuldig.
- 5.3.26 Incubeer minimaal 60 minuten bij kamertemperatuur.
- 5.3.27 Meet de extincties van de ammoniakstikstof standaardoplossingen en de monsters met een spectrofotometer bij 340 nm.

6. Resultaten

6.1 Berekening

Onoplosbaar eiwit-N

De berekening van het onoplosbaar eiwit-N gehalte geschiedt volgens de volgende formule:

$$\text{Onoplosbaar fecaal stikstof (g/kg)} = (V_m - V_{bl}) * 14 * t / m$$

Waarbij

V_m = volume titrant gebruikt bij analyse monster (ml)

V_{bl} = volume titrant gebruikt bij analyse blanco (ml)

14 = atoommassa stikstof

t = titer zuur (M)

m = inweeg monster (g)

α -aminostikstof

IJKlijn en gehalten in de meetoplossing

Bereken uit de extincties van de α -aminostikstof standaardoplossingenreeks via lineaire regressie een calibratiecurve:

$$Y = a * X + b$$

Waarbij:

Y = gemeten extinctie

X = concentratie α -aminostikstof mmol/l

a = extinctiecoëfficiënt (helling)

b = snijpunt met de Y-as (intercept)

Via interpolatie worden uit de extincties de concentraties aan α -aminostikstof (AAMN) in de oplossingen berekend.

$$\text{AAMN}_{\text{oplossing}} \text{ (mM)} = (Y - b) / a$$

Het gehalte aan α -aminostikstof (g/kg) in het gevriesdroogde monster wordt via onderstaande formule berekend:

$$\text{AAMN}_{\text{monster}} \text{ (g/kg)} = \text{AAMN}_{\text{oplossing}} \text{ (mM)} * 14 * \text{volume (l)} / \text{inweeg (g)}$$

Bij de gevolgde procedure is het volume 0,1 l en de inweeg circa 0,3 g.

Ammoniakstikstof

IJKlijn en gehalten in meetoplossingen:

Bereken uit de extincties van de ammoniak standaardoplossingenreeks via lineaire regressie een calibratiecurve:

$$Y = a * X + b$$

Waarbij:

Y = extinctie (verschil tussen gehaltenmeting en blancometing)

a = richtingscoëfficiënt (helling)

b = snijpunt met Y-as (intercept)

X = concentratie (mmol/l)

Via interpolatie worden uit de extincties de concentraties aan ammoniakstikstof ($\text{NH}_3\text{-N}$) in de oplossingen berekend.

$$\text{NH}_3\text{-N}_{\text{oplossing}} \text{ (mM)} = (Y - b) / a$$

Het gehalte aan ammoniakstikstof (g/kg) in het vaste monster wordt volgens via de onderstaande formule berekend:

$$\text{NH}_3\text{-N}_{\text{monster}} \text{ (g/kg)} = \text{NH}_3\text{-N}_{\text{oplossing}} \text{ (mM)} * 14 * \text{volume (l)} / \text{inweeg (g)}$$

Bij de gevolgde procedure is het volume 0,1 l en de inweeg circa 0,3 g.

Fecaal stikstof

Oplosbaar fecaal stikstof

De hoeveelheid fecaal stikstof wordt via de onderstaande formule berekend:

$$\text{Oplosbaar fecaal stikstof (g/kg)} = \text{AAMN (g/kg)} - \text{NH}_3\text{-N (g/kg)}$$

(Totaal) fecaal stikstof

De (totale) hoeveelheid fecaal stikstof wordt als volgt berekend:

$$\text{Fecaal stikstof (g/kg)} = \text{oplosbaar fecaal stikstof (g/kg)} + \text{onoplosbaar fecaal stikstof (g/kg)}$$

7. Opmerkingen

- 7.1 Via de ninhydrine methode worden alle stikstof componenten met een vrije aminogroep bepaald. Uit het bij paragraaf 8 genoemde onderzoek is echter gebleken dat ureum en het gecomplexeerde urinezuur niet met deze methode worden gemeten. Hierdoor is alleen correctie voor ammoniak nodig.
- 7.2 Goed naspoelen van het neerslag op het filter is noodzakelijk om alle vloeistofresten, met daarin urine stikstofverbindingen te verwijderen. Onvoldoende naspoelen leidt tot overschatting van het gehalte aan faecale stikstof.

8. Literatuur

- 8.1 Jonge, L.H. de, A.K. Wissink, H.A.J. Versteegh. (2000) Validatiestudie van de bepaling van faecaal stikstof in pluimveemest volgens de gemodificeerde Terpstra methode. Rapport ID-Lelystad no. 2054.

Bijlage 3

Berekening van de fecale nutriëntverteerbaarheden.

1. Excreta/voer verhouding op basis van droge stof:

Op basis van de kwantitatieve meting van de hoeveelheid opgenomen droge stof via het voer en de hoeveelheid geproduceerde droge stof in de excreta wordt de verhouding $DS_{excreta}/DS_{voer}$ bepaald.

2. Berekening van de geproduceerde hoeveelheid OS van fecale oorsprong:

$$OS_{feces} = OS_{excreta} * (1 - 3,41 * N_{urine})$$

waarbij OS in grammen, en N_{urine} in g/g $OS_{excreta}$

3. Berekening van $VCOS_{fecaal}$ en VOS_{fecaal} :

$$VCOS_{fecaal} = 100 * (OS_{voer} - OS_{feces}) / OS_{voer}$$

en

$$VOS_{fecaal} = OS_{voer} * VCOS_{fecaal}/100$$

waarin OS_{voer} en OS_{feces} de hoeveelheid organische stof opgenomen via het voer en via de feces uitgescheiden is.

4. Berekening van de hoeveelheid fecaal N:

$$N_{fecaal} = \text{onoplosbaar fecaal N} + \text{oplosbaar fecaal N},$$

waarbij:

- oplosbaar fecaal N = oplosbaar α -amino N – NH₃-N
- N_{fecaal} in g/kg DS_{feces} is te berekenen door de kwantitatief bepaalde N_{feces} (in g) te delen door DS_{feces} (in g/1000).

5. Berekening van de hoeveelheid fecaal RE:

$$RE_{feces} \text{ (g/kg } DS_{feces}) = N_{fecaal} * 6,25$$

6. Berekening van $VCRE_{fecaal}$ en VRE_{fecaal} :

$$VCRE_{fecaal} = 100 * \left(1 - \frac{(Excreta * DS_{excreta}) * \left(\frac{RE_{excreta}}{DS_{excreta}} \right)}{(Voer * DS_{voer}) * \left(\frac{RE_{voer}}{DS_{voer}} \right)} \right)$$

en

$$VRE_{fecaal} = RE_{voer} * VCRE_{fecaal}/100$$

waarin RE_{voer} en $RE_{excreta}$ in g/kg DS in resp. voer en excreta.

6. Berekening van $VCZET_{fecaal}$ en $VZET_{fecaal}$:

$$VCZET_{fecaal} = 100 * \left(1 - \frac{(Excreta * DS_{excreta}) * \left(\frac{ZET_{excreta}}{DS_{excreta}} \right)}{(Voer * DS_{voer}) * \left(\frac{ZET_{voer}}{DS_{voer}} \right)} \right)$$

en

$$VZET_{fecaal} = ZET_{voer} * VCZET_{fecaal}/100$$

waarin ZET_{voer} en $ZET_{excreta}$ in g/kg DS in resp. voer en excreta.

7. Berekening $VCRVET_{fecaal}$ en $VRVET_{fecaal}$:

$$VCRVET_{fecaal} = 100 * \left(1 - \frac{(Excreta * DS_{excreta}) * \left(\frac{RVET_{excreta}}{DS_{excreta}} \right)}{(Voer * DS_{voer}) * \left(\frac{RVET_{voer}}{DS_{voer}} \right)} \right)$$

en

$$VRVET_{fecaal} = RVET_{voer} * VCRVET_{fecaal}/100$$

waarin $RVET_{voer}$ en $RVET_{excreta}$ in g/kg DS in resp. voer en excreta.

9. Berekening van $VCNZK_{fecaal}$ en $VNZK_{fecaal}$:

$$VCNZK_{fecaal} = 100 * \left(1 - \frac{(Excreta * DS_{excreta}) * \left(\frac{NZK_{excreta}}{DS_{excreta}} \right)}{(Voer * DS_{voer}) * \left(\frac{NZK_{voer}}{DS_{voer}} \right)} \right)$$

en

$$NZK_{fecaal} = NZK_{voer} * VCNZK_{fecaal}/100$$

waarin:

- NZK = de niet-zetmeel koolhydraat fractie
- $NZK_{voer} = OS_{voer} - RE_{voer} - RVET_{voer} - ZET_{voer}$
- $NZK_{excreta} = OS_{excreta} - RE_{feces} - 3,41 * N_{urine} - VRVET_{excreta} (- ZET_{excreta})^7$
- alle gehalten in voer en excreta, feces of urine hebben betrekking op de hoeveelheid die op basis van de kwantitatieve meting is opgenomen via het voer en is uitgescheiden via de excreta, feces of urine.

10. Berekening van $VCKH_{fecaal}$ en VKH_{fecaal} :

⁷ In principe wordt uitgegaan van een volledige fecale verteerbaarheid van zetmeel, hetgeen betekent dat deze aftrekpost gelijk aan nul is. Indien bij meting van de verteerbaarheid van (bepaalde) zetmeelbronnen blijkt dat de fecale verteerbaarheid significant van 100 % afwijkt, dient deze aftrekpost wel in rekening te worden gebracht.

$$VCKH_{\text{fecaal}} = 100 * \left(1 - \frac{(Excreta * DS_{\text{excreta}}) * \left(\frac{KH_{\text{excreta}}}{DS_{\text{excreta}}} \right)}{(Voer * DS_{\text{voer}}) * \left(\frac{KH_{\text{voer}}}{DS_{\text{voer}}} \right)} \right)$$

en

$$VKH_{\text{fecaal}} = KH_{\text{voer}} * VCKH_{\text{fecaal}}/100$$

waarin:

- KH = de koolhydraatfractie in het voedermiddel
- $KH_{\text{voer}} = OS_{\text{voer}} - RE_{\text{voer}} - RVET_{\text{voer}}$
- $KH_{\text{feces}} = OS_{\text{feces}} - RE_{\text{feces}} - 3,41 * N_{\text{urine}} - VRVET_{\text{feces}}$
- alle gehalten in voer en excreta, feces of urine hebben betrekking op de hoeveelheid die op basis van de kwantitatieve meting is opgenomen via het voer en is uitgescheiden via de excreta, feces of urine.

11. Berekening van VCOOS_{fecaal} en VOOS_{fecaal}:

$$VCOOS_{\text{fecaal}} = 100 * \left(1 - \frac{(Excreta * DS_{\text{excreta}}) * \left(\frac{OOS_{\text{excreta}}}{DS_{\text{excreta}}} \right)}{(Voer * DS_{\text{voer}}) * \left(\frac{OOS_{\text{voer}}}{DS_{\text{voer}}} \right)} \right)$$

en

$$VOOS_{\text{fecaal}} = OOS_{\text{voer}} * VCOOS_{\text{fecaal}}/100$$

Waarin:

- OOS = overige organische stof
- $OOS_{\text{voer}} = OS_{\text{voer}} - RE_{\text{voer}} - RVET_{\text{voer}} - ZET_{\text{voer}} - SUI_{\text{voer}} * CFdi$
- $OOS_{\text{excreta}} = OS_{\text{excreta}} - RE_{\text{excreta}} - 3,41 * N_{\text{urine}} - RVET_{\text{excreta}} (- ZET_{\text{excreta}} - SUI_{\text{excreta}} * CFdi)^8$
- alle gehalten in voer en excreta, feces of urine hebben betrekking op de hoeveelheid die op basis van de kwantitatieve meting is opgenomen via het voer en is uitgescheiden via de excreta, feces of urine.

⁸ zie voetnoot 7; voor SUI wordt uitgegaan van een 100 % fecale verteerbaarheid.