

PROTOCOL

VOOR EEN ILEALE VERTERINGSPROEF MET GECANULEERDE VLEESVARKENS¹

Dit protocol is geaccordeerd door de CVB werkgroep "Voeding en voederwaardering Varkens en Pluimvee" van het Productschap Diervoeder op 15 maart 2011.

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

¹ Dit protocol is in principe ook geschikt voor ileaal verteringsonderzoek bij jonge biggen.

PROTOCOL VOOR EEN ILEALE VERTERINGSPROEF MET GROEIENDE, GECANULEERDE VLEESVARKENS OF DOOR TOEPASSEN VAN DE SLACHTTECHNIEK

1 DOEL

Het vaststellen van de ileale verteerbaarheid van nutriënten (Weende analyse componenten, aminozuren, zetmeel) van rantsoenen, enkelvoudige (vochtrijke) voedermiddelen of ruwvoerders met groeiende, gecanuleerde vleesvarkens of door toepassing van de slachttechniek, in beide gevallen volgens de indicatormethode, gebeurt primair ten behoeve van de voederwaardering in het kader van het in Nederland bestaande waarderingssysteem.

2 DEFINITIE/TOELICHTING

De ileale verteerbaarheid van een nutriënt is het quotiënt van de hoeveelheid schijnbaar verteerde en de hoeveelheid opgenomen nutriënt. Onder de schijnbaar verteerde hoeveelheid van een nutriënt wordt verstaan het verschil tussen de opgenomen hoeveelheid en de hoeveelheid die aan het eind van het ileum de dunne darm via de canule dan wel via de slachttechniek wordt verzameld, waarbij de hoeveelheid in het laatste geval bestaat uit de hoeveelheid onverteerde nutriënt uit het rantsoen plus de hoeveelheid onverteerde nutriënt van endogene oorsprong.

Opmerking: Bij de verteringsproeven (en de waarderingssystemen) wordt uitgegaan van volledige additiviteit van verteerbare bestanddelen uit de afzonderlijke grondstoffen / voercomponenten.

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

In het kader van de eiwit/aminozuurwaardering van voedermiddelen voor vleesvarkens dient de schijnbare ileale verteerbaarheid van de aminozuren te worden bepaald. Dit gebeurt bij een zodanig voerniveau dat enerzijds de te meten verteerbaarheden representatief zijn voor in de praktijk toegepaste voerniveaus, en anderzijds het risico van het optreden van voerresten bij het onderzoek van een grote verscheidenheid aan voedermiddelen minimaal is. Verder dient, om zo betrouwbaar mogelijke uitspraken te kunnen doen t.a.v. de verteerbaarheid van de nutriënten in het te onderzoeken voedermiddel (= testproduct), het aandeel van het testproduct in het rantsoen zo hoog mogelijk te zijn, zonder dat dit leidt tot langdurige verstoring van de voeropname en/of de verteringsfysiologie veroorzaakt door het testproduct (zie par. 6.6.2). Wat betreft het aan te houden voerniveau wordt, naar analogie van het protocol voor een fecale verteringsproef met groeiende intacte vleesvarkens (CVB, 2005), zo mogelijk gekozen voor een voerniveau van (tenminste) 2,8 maal het onderhoudsniveau voor energie (zie ook par. 6.6.3).

Voor een verklaring van de gebruikte afkortingen wordt zonodig verwezen naar de Veevoedertabel (1995).

3 PRINCIPE

In een ileale verteringsproef wordt vastgesteld welk deel van de opgenomen hoeveelheid van één of meer nutriënten in een rantsoen in de chymus aanwezig is en dus schijnbaar niet

verteerd is aan het eind van de dunne darm. Daarbij wordt de verteerbaarheid van een nutriënt vastgesteld d.m.v. de berekening met een indicator, waarbij ervan uitgegaan wordt dat een in het voer reeds aanwezige of een daaraan toegevoegde indicator inert is en gelijkmatig verdeeld is over de droge stof van voer en chymus. Bij deze methode is het niet noodzakelijk de voeropname en de hoeveelheid geproduceerde chymus kwantitatief vast te stellen.

Zowel de in het rantsoen aanwezige componenten als de chymus worden bemonsterd en geanalyseerd op de indicator en de te onderzoeken nutriënten. Aan de hand van de verhouding tussen nutriënt en indicator in zowel het rantsoen als de chymus wordt de verteerbaarheid van een nutriënt berekend.

Dit protocol biedt, wat betreft het verzamelen van de chymus aan het einde van het ileum, twee mogelijkheden: a) het werken met gecanuleerde dieren en b) het toepassen van de slachttechniek.

Bij een zgn. directe meting van de verteerbaarheid zijn de nutriënten in het rantsoen uitsluitend afkomstig van het testproduct of van het rantsoen. Wanneer het rantsoen geheel bestaat uit het testproduct zijn de VC's van de nutriënten van het proefvoeder gelijk aan die van het rantsoen.

Indien het aandeel testproduct in het rantsoen < 95 % is, maar het gehalte van één of meer nutriënt(en) volledig afkomstig is van het testproduct, dan dient bij de berekening van de verteerbaarheid van deze nutriënt(en) correctie plaats te vinden voor de endogene uitscheiding die veroorzaakt wordt door het "niet-testproduct gedeelte" van het rantsoen.

Bij een zgn. indirecte meting wordt gebruik gemaakt van de gegevens van twee rantsoenen:

a) een rantsoen (I) dat bestaat uit een testproduct en één of meer basisvoerders, en b) een rantsoen (II) dat uitsluitend uit het (de) basisvoeder(s) van rantsoen I bestaat. De VC's van de testproduct worden via verschilberekening uit de VC's van de rantsoenen I en II berekend.

Binnen een proef of serie proeven, waarbij de verteerbaarheid van één of meer testproducten wordt onderzocht, moet ook steeds de verteerbaarheid van rantsoen II worden vastgesteld. Dit kan desgewenst plaatsvinden bij andere dieren dan waarbij de nutriëntverteerbaarheden van de testproducten worden vastgesteld, waarbij een Latijns vierkant opzet sterke voorkeur verdient.

4 PRECISIE

Maximaal aanvaardbare standaardafwijking van het gemiddelde (SEM)

Criterium voor de kwaliteitsbeoordeling van een ileale verteringsproef is de SEM (standaardafwijking van het gemiddelde) van de verteringscoëfficiënt van de organische stof van het rantsoen.

De nauwkeurigheid van de VC's van de nutriënten is bij een directe meting o.a. afhankelijk van het gehalte en het niveau van de verteerbaarheid van de betreffende nutriënt in het testproduct en bij een indirecte meting tevens van de verhouding tussen testproduct en basisvoeder(s) in het rantsoen. Daarom kunnen aan de VC's van de afzonderlijke nutriënten in het kader van het beoordelen van de nauwkeurigheid van de proef geen nadere eisen worden gesteld.

Aan de SEM (berekend over alle dieren waarvoor waarnemingen zijn verzameld) van de gemiddelde VCOS van een rantsoen wordt de eis gesteld dat de SEM ≤ 2 % eenheden moet zijn.

Om dit te kunnen garanderen kan het voorkomen dat in bepaalde gevallen een groter aantal dieren moet worden ingezet dan minimaal wordt vereist (zie punt 6.2).

5 BENODIGDHEDEN

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

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.

In het proefplan worden de gegevens vermeld

- a. waarvan dit protocol expliciet aangeeft dat ze hierin moeten worden beschreven,
- b. die een afwijking van de in dit protocol beschreven werkwijze (dan wel een uitbreiding daarvan) betekenen, en
- c. 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 voerresten, voerweigerings, excessieve wateropname, storingen in ventilatie, afwijkende temperaturen e.d.

Wanneer er, op aanwijzing van de dierenarts, veterinaire behandelingen zijn uitgevoerd tijdens de adaptatie-, voor- of hoofdperiode worden deze met een argumentatie genoteerd.

6.2 Dieren

- In het proefplan wordt het aantal dieren (per rantsoen dienen van minimaal 4 herhalingen valide waarnemingen beschikbaar te zijn voor het berekenen van de verteerbaarheden) en het ras/de kruising aangegeven. Er wordt uitgegaan van een voor de Nederlandse situatie gangbare kruising.
- Leeftijd/gewicht van de dieren dienen in het proefplan te worden aangegeven. Tijdens de hoofdperiode dient het gewicht tussen 40 en 100 kg (uitloop tot eventueel 115 kg) te liggen.
- Voor het meten van de ileale verteerbaarheid m.b.v. een canule dient gebruik te worden gemaakt van borgen² die voorzien zijn van een canule in het caecum, een PVTC of SICV (resp.: van Leeuwen et al., 1991 en Mroz et al., 1995), of een T-canule³. Om mogelijke (maar niet gepubliceerde) sexe-verschillen tussen proeven met de canulatietechniek en de slachttechniek te minimaliseren dienen ook bij toepassing van de slachttechniek borgen te worden gebruikt.

² Hoewel er geen gedocumenteerde gegevens zijn m.b.t. het effect van sekse op de nutriëntenvertering, en dus waarschijnlijk ook gelten gebruikt kunnen worden, hebben borgen o.a. in verband met het realiseren van het gewenste voerniveau de voorkeur.

³ Specificatie T-canule: minimale interne diameter 10 mm, zo mogelijk groter mede afhankelijk van het lichaamsgewicht van de gebruikte dieren.

- Aan het begin van de eerste adaptatieperiode vinden de noodzakelijk geachte veterinaire behandelingen (bijv. ontworming) plaats. Indien verder, op aanwijzing van de dierenarts, nog veterinaire behandelingen worden uitgevoerd, dienen deze met argumentatie in de rapportage te worden vermeld.

6.3 Huisvesting

- De proefruimte wordt geventileerd en op een zodanige temperatuur gehouden dat de dieren zich in de thermoneutrale zone bevinden.
- Gedurende de nacht wordt niet of gedimd verlicht.
- De dieren worden individueel in verteringshokken gehouden, waarin ze zich vrij kunnen bewegen.

6.4 Rantsoenen

6.4.1 Definities

Testrantsoen:

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

Testproduct:

Een testproduct kan zijn een enkelvoudig (droog of vochtrijk) voedermiddel⁴, ruwvoeder of voermengsel.

Basisvoeder:

Een basisvoeder is een voer dat naast een testproduct wordt verstrekt, omdat het testproduct niet enkelvoudig opgenomen wordt of niet voldoet aan de in paragraaf 6.4.4 gestelde eisen (zie ook Tabel 1).

6.4.2 Testproduct

Een te onderzoeken testproduct 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.

Indien de testproduct een mengvoedergrondstof is, dient als regel aan de volgende eisen te worden voldaan:

- Onbehandelde en ongemalen testproducten dienen bij een visuele beoordeling als zuiver te (kunnen) worden beoordeeld. Indien visuele beoordeling niet goed mogelijk is (bijv. bij gemalen producten) moet bij microscopische analyse blijken dat de zuiverheid voldoet aan de criteria beschreven in de "Lijst van enkelvoudige diervoedergrondstoffen" (Centraal Veevoederbureau, 1994).
- Van het testproduct dient een partij te worden aangekocht waarvan de herkomst (land,

⁴ Voor een goed inzicht in de (variatie in) verteerbaarheid binnen een voedermiddel is het gewenst dat van minimaal enkele partijen in afzonderlijke proeven de verteerbaarheid wordt vastgesteld. Wanneer (in eerste instantie) slechts één enkele waarneming wordt uitgevoerd, wordt voor het verkrijgen van verteerbaarheden die representatief zijn voor het gemiddelde product sterk aanbevolen van het testproduct een aantal (minimaal 3) partijen te mengen en van deze mengpartij de verteerbaarheid te onderzoeken.

ras, aard van het productieproces e.d.) zo nauwkeurig mogelijk bekend is.

Afhankelijk van de te onderzoeken mengvoedergrondstof en het doel van het onderzoek, kunnen aan de grondstof aanvullende (analytische) eisen worden gesteld.

Wanneer het proefvoeder een mengvoedergrondstof is, wordt deze in het rantsoen verwerkt zoals deze in de markt wordt aangeboden, behoudens dat de grondstof -indien nodig- gemalen wordt met een hamermolen over een zeef van 2 – 3,5 mm.

Van een testproduct wordt (volgens de in 6.7.1 voor rantsoenen beschreven werkwijze) het gewenste aantal submonsters gemaakt voor analyses en bewaring. Er dienen minimaal 2 submonsters voor opslag te worden gemaakt; bewaring dient op adequate wijze plaats te vinden (in droge toestand via lucht-/vriesdrogen of diepgevroren).

6.4.3 Algemene uitgangspunten

6.4.3.1 Bij de formulering van een rantsoen wordt voor de berekening van de nutriëntgehalten voor de op te nemen grondstoffen uitgegaan van de waarden in de meest actuele versie van de CVB Veevoedertabel. In het proefplan worden de voor het rantsoen berekende gehalten aan RE, RVET, RC, zetmeel, suikers, NSP en de berekende waarden voor de VCOS en NEv vermeld.

6.4.3.2 Ten behoeve van het correct berekenen van de nutriëntverteerbaarheden bij toepassing van de indirecte methode dient van de testproduct en het (de) basisvoeder(s), in daartoe direct voorafgaand aan de bereiding van het proefrantsoen te nemen monsters, het vochtgehalte nauwkeurig te worden vastgesteld.

6.4.3.3 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 lab-technische overwegingen de voorkeur verdient- Ca). Voordat de proef wordt gestart dienen de berekende gehalten vergeleken te worden met de geanalyseerde gehalten. Het testrantsoen (en -indien gewenst- het basisrantsoen en het testproduct) 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 testrantsoen niet juist heeft plaatsgevonden, vindt bereiding van een nieuwe batch van het betreffende rantsoen plaats.

6.4.3.4 Aan de rantsoenen worden geen groeibevorderaars, antibiotica, enzymen of soortgelijke additieven toegevoegd. 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 VCOS 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.

6.4.3.5 Testproducten, basisrantsoen en testrantsoen(en) dienen onder geconditioneerde omstandigheden (bij voorkeur diepgevroren bij ≤ -20 °C) te worden bewaard, zodanig dat de karakteristieken ervan niet worden aangetast. Tijdens de proef worden de voeders meestal niet diepgevroren, doch gekoeld (zeker bij brijvoerders) opgeslagen of (voor max. 7 dagen) bij kamertemperatuur

6.4.4 Basisrantsoen

Voor de samenstelling van een basisrantsoen dient bij voorkeur een beperkt aantal 'neutrale' grondstoffen⁵ met een daarvoor representatieve gemiddelde samenstelling te worden gebruikt. Ook dienen bij voorkeur grondstoffen te worden gebruikt die zo constant mogelijk van samenstelling zijn.

6.4.5 Testrantsoen

6.4.5.1 Een testrantsoen bestaat als regel uit een bepaald percentage (X %) van de testgrondstof en een bepaald percentage (100 - X %) basisrantsoen, of uit Y% basisrantsoen en Z% minerale voedermiddelen en premix, waarbij (Y+Z) = (100-X)

6.4.5.2 Het aandeel van het proefvoeder in het rantsoen dient enerzijds zodanig te zijn dat de VCOS 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.

6.4.5.3 Globale richtlijn voor het inmengingspercentage van de proefvoerders:

- a. Granen en tapioca 40 %;
- b. Peulvruchten 30 %;
- c. Schroten 25 - 30 %;
- d. Graanbijproducten: afhankelijk van het bijproduct 20 - (maximaal) 35 %;
- e. Vismeel en diermeel 15 - 20 %;
- f. Luzerne 15 - 20 %;
- g. Vet: ≤ 8 %

6.4.6 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 nutriënten (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.

Tabel 1. Eisen met betrekking tot de berekende nutriëntgehalten van rantsoenen^{1,2)}.

Parameter	Minimum	Maximum
RE (g/kg)	110	250
RVET (g/kg)	20	100
NSP (g/kg)	50	300
Lys, Met + Cys, Thr en Trp op basis van ileale verteerbaarheid	≥ 80 % van de behoefte ³⁾	
Ca (g/kg)	4,0	6,0
verteerbaar P (g/kg)	1,6	3,5
Na (g/kg)	1,2	3,0
Cation - Anion verschil; (K + Na - Cl) in meq/kg	100	300
(Overige) mineralen en vitaminen	er dient te worden voldaan aan de behoeftenorm ⁴⁾	

¹⁾: De vermelde eisen hebben betrekking op een rantsoen dat is omgerekend naar een DS-gehalte van 870 g/kg en een EW-waarde van 1,05.

²⁾: Soms is het niet mogelijk aan alle genoemde randvoorwaarden (bijv. voor Ca als diermeel, sommige rijstevoermelen e.d. het testproduct zijn) te voldoen. Als niet aan de gestelde randvoorwaarden kan worden voldaan, dient hierover vooraf overleg plaats te vinden met de

⁵ D.w.z. goed verteerbare grondstoffen die geen specifieke endogene productie opwekken.

- opdrachtgever; tevens dient er in het rapport melding van te worden gemaakt.
- 3): Zie hiervoor N. P. Lenis, "Behoeftenormen schijnbaar verteerbare aminozuren voor vleesvarkens", Hoofdstuk 1 in CVB-documentatierapport nr. 14 "Aminozurenbehoefte van biggen en vleesvarkens", november 1996, Centraal Veevoederbureau, Lelystad.
- 4): Zie ARC, 1981.

Als in bepaalde gevallen noodgedwongen afgeweken moet worden van of niet voldaan kan worden aan de eisen dient hiervan melding te worden gemaakt in het proefplan en de rapportage.

Aan de rantsoenen worden geen groeibevorderaars, antibiotica of soortgelijke additieven toegevoegd.

6.5 Voerschema, voederintervallen en drinkwater

Om de voerhoeveelheid te bepalen die in de voor- en hoofdperiode moet worden verstrekt, worden de dieren enkele dagen voor het einde van de adaptatieperiode gewogen. Op basis van het gewicht van de dieren en een verwachting ten aanzien van de groei wordt het gewicht in het midden van de hoofdperiode geschat. Vervolgens wordt de te verstrekken voerhoeveelheid per dag berekend met de volgende formule:

$$\text{voerhoeveelheid (in kg/dag)} = \frac{419 \times G^{3/4} \times 0,7 \times VN}{NEv_{\text{rantsoen}}}$$

- 419 = Energie voor onderhoud, kJ ME/dag per kg metabolisch gewicht
 G^{3/4} = Metabolisch gewicht
 0,7 = Omrekeningsfactor voor het berekenen van NEv uit ME (= metabolische energie)
 VN = Voerniveau; dit dient 2,8 x het onderhoudsniveau aan NEv te zijn⁶
 NEv_{rantsoen} = Geschatte Netto Energie inhoud van het rantsoen (kJ/kg)

De hoeveelheid rantsoen die tijdens voor- en hoofdperiode wordt verstrekt dient voor iedere voertijd tot op 10 gram nauwkeurig te worden afgewogen⁷

De dieren dienen zodanig te worden gevoerd dat de passagesnelheid van het voer door het maagdarmkanaal geen invloed heeft op de te meten verteerbaarheid. Dit betekent dat ten minste twee keer per dag moet worden gevoerd, met een minimaal interval van 8 uur.⁸

De rantsoenen dienen, met uitzondering van verteringsonderzoek met vochtrijke diervoeders en ruwvoeders, te worden verstrekt als koud gepelleteerde voeders.⁹ Het koud pelletteren

⁶ Dit is hetzelfde voerniveau als in het protocol voor een fecale verteringsproef met vleesvarkens. Wanneer de dieren de aangeboden hoeveelheid voer gedurende 2 dagen niet volledig opnemen, dient het voerniveau te worden verlaagd; berekening van het te realiseren voerniveau kan plaatsvinden aan de hand van de grootte van de voerresten. Er dient ook in dit geval een zo hoog mogelijk voerniveau te worden nagestreefd.

⁷ Vanwege het toepassen van de indicatormethode is hier geen extreem hoge nauwkeurigheid nodig.

⁸ Bij toepassing van de slachttechniek wordt op dag van slachten aan de dieren vanaf min. 6 uur voor slachten minimaal iedere twee uur een proportionele hoeveelheid voer verstrekt.

⁹ Eerst nadat tijdens de productie (en –zo mogelijk- na verandering van het aandeel testproduct in het rantsoen) is gebleken blijkt dat onder de voorgeschreven condities op geen enkele manier een acceptabele pellet geproduceerd kan worden, kan in overleg met de opdrachtgever worden besloten tot het verstrekken van het testrantsoen als brijvoer, op de proeflocatie samen te stellen uit x% (normaal) gepelleteerd basisrantsoen en (100-x)% testproduct. Voor de bereiding van het

heeft uitsluitend tot doel het verdichten van meel tot pellets, zodanig dat daarbij door temperatuur of druk geen of minimale effecten optreden die de vertering(ssnelheid) beïnvloeden. Dit betekent dat de temperatuur van de pellet bij verlaten van de matrijs ≤ 65 °C dient te zijn.

Indien de verteerbaarheid van een vochtrijk diervoeder dient te worden onderzocht dient zowel het basisrantsoen als het testrantsoen in de vorm van brijvoer te worden verstrekt. Door het verstrekken van een homogeen mengsel wordt ongewenste selectie van rantsoencomponenten voorkomen.

De hoeveelheid water waarover de dieren minimaal moeten kunnen beschikken is 2,5 l per kg DS-opname. Wanneer de rantsoenen in de vorm van een brijvoer worden verstrekt, dient maximaal 30 minuten met koud water te worden voorgeweekt, zodat voorkomen wordt dat de karakteristieken van de rantsoenen door fermentatie e.d. worden aangetast

Ingeval van het onderzoeken van de verteerbaarheid van een ruwvoer dient in het proefplan een adequate procedure te worden beschreven hoe het verstrekken van een homogeen rantsoen en een homogene opname van de indicator wordt gerealiseerd.

In het proefplan en de rapportage dienen nadere gegevens te worden opgenomen m.b.t. de wijze van afwegen van rantsoen, de voergift, voerfrequentie en -tijdstippen, drinkwaterverstrekking en voorweken van brijvoerders.

6.6 Perioden

6.6.1 Definities

Voorperiode (Vp):

De voorperiode valt feitelijk in twee fasen uiteen:

- de eerste fase, die dient om de dieren te laten wennen aan veranderde huisvestingsomstandigheden (verteringsshokken, stalklimaat) en aan veranderingen in voer(wijze) en voerniveau.
- Een tweede fase die dient om de dieren verteringsfysiologisch geheel aan het nieuwe rantsoen te adapteren (d.w.z. dat ze in een steady state verkeren) op het gewenste voerniveau van $2,8 * M$. Deze fase start op het moment dat aan de dieren uitsluitend het te onderzoeken rantsoen wordt verstrekt.

De voorperiode omvat:

1. óf periode tussen plaatsing van de dieren in de verteringsshokken en de start van de eerste hoofdperiode (Vp1; Zie schema).
2. óf periode tussen het einde van een hoofdperiode en het begin van een nieuwe hoofdperiode (Vp2).

Hoofdperiode (Hp):

De periode waarin verzameling van de chymus plaatsvindt.

Schema met tijdbalk voor een verteringsproef.



6.6.2 Voorperiode

Een verteringsproef bestaat ten eerste uit een voorperiode.

brijvoer gelden de in de volgende paragraaf vermelde condities.

Eerste fase:

- De eerste fase van de voorperiode duurt tenminste 5 dagen indien de dieren voor het eerst of opnieuw in de verteringsaccommodatie worden geplaatst.
- Indien de dieren worden overgezet van het ene rantsoen op het andere, dient deze voerovergang geleidelijk plaats te vinden zonder dat dit leidt tot voedingsstoornissen. Een en ander dient zo nodig in het proefplan en de rapportage te worden gespecificeerd.

Tweede fase:

De tweede fase is bedoeld om het dier verteringsfysiologisch in een steady state te brengen. De duur van deze fase is daardoor afhankelijk van het rantsoen (m.n. het VNSP niveau) en de doorgevoerde rantsoenovergang (bijv. overgang van een laag naar een hoog VNSP rantsoen). Om er "zeker" van te zijn dat het dier in een steady state is dient fase 2 van de voorperiode bij een laag VNSP (< 50 g/kg DS) rantsoen minimaal 5 dagen te duren, oplopend tot > 7 dagen bij een (zeer) VNSP rijk rantsoen (> 150 g/kg DS).

De duur van de voorperiode is niet afhankelijk van de manier waarop de chymusverzameling plaatsvindt.

6.6.3 Hoofdperiode

In de hoofdperiode wordt de chymus verzameld.

- Indien de chymus wordt verzameld via een canule gebeurt dit gedurende minimaal twee maal de tijdsduur tussen twee opeenvolgende voertijden. De totale tijdsduur van de perioden, waarin chymus verzameld wordt, moet minimaal 24 uur zijn. Tussen twee perioden, waarin chymus verzameld wordt, moeten minimaal 3 voerbeurten zitten. Tijdens de verzamelperiode wordt de hoeveelheid opgenomen voer bepaald en de geproduceerde chymus (einde dunne darm) zo volledig mogelijk verzameld. De verteerbaarheid wordt berekend m.b.v. de indicator. Om een eventueel tekort aan vitamines, spoorelementen en mineralen t.g.v. het verzamelen van de chymus te voorkomen kan het gehalte aan genoemde nutriënten in het rantsoen iets verhoogd worden.
- Het verzamelen van de chymus via de slachttechniek kan plaatsvinden op de eerste dag nadat de voorperiode is verstreken. Dit betekent dat de hoofdperiode slechts zeer kort kan/zal zijn.

Het is ongewenst wanneer tijdens de hoofdperiode voerresten ontstaan. Wanneer een incidenteel dier over de gehele voerperiode een voerrest heeft van meer dan 10%, dienen de gegevens van dit dier niet te worden betrokken in de berekeningen van de verteerbaarheid van het betreffende rantsoen. Wanneer voerresten optreden, moet worden geverifieerd dat het voerniveau niet tot beneden $2,3 \cdot$ onderhoud daalt, wat als ondergrens wordt beschouwd voor het doen van valide waarnemingen.

Bij het verstrekken van een rantsoen in de vorm van pellets of een brijvoer, is de kans op het selecteren van bepaalde rantsoencomponenten vrijwel nihil. Daarom dienen, als daarvan sprake is, de voerresten van elk dier te worden verzameld en in afgesloten toestand bewaard, zodanig dat de karakteristieken ervan niet veranderen. Aan het einde van de hoofdperiode worden de voerresten gewogen. De wijze waarop met de volgens dit protocol nog aanvaardbare voerresten wordt omgegaan dient door het instituut in het proefplan te worden beschreven.

Er wordt geen chymus verzameld van dieren die op dat moment ziekteverschijnselen (bijv. diarree) vertonen.

6.7 Verzameling, bewaring en bemonstering van rantsoen(componenten) en chymus

6.7.1 Bemonstering van het rantsoen

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

Wanneer het rantsoen bestaat uit één (vooraf voor de gehele proef bereid) homogeen mengsel vindt bemonstering plaats 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.

In situaties dat het rantsoen niet bestaat uit één voor de gehele proef bereid homogeen mengsel, vindt tijdens uitvoering van de proef afzonderlijke bemonstering plaats van het proefvoeder en het (de) basisvoeder(s).

Bemonstering van vochtrijke diervoeders vindt plaats zoals beschreven in de "Handleiding Voederwaardeberekening Ruwvoeders" (CVB, 1992). De monsters worden zodanig geconditioneerd bewaard dat bij analyse een betrouwbare waarde wordt verkregen voor het gehalte van de betreffende component op het moment van vervoeding in de proef.

Submonsters van droge dan wel gedroogde voeders die bestemd zijn voor analyse, worden gemalen (1 mm zeef laboratoriummolen) en vervolgens voor analyse aangeboden.

6.7.2 Verzameling, bewaring en bemonstering van chymus

6.7.2.1 Verzameling van de chymus via een canule

Tijdens de verzamelperioden wordt de chymus opgevangen in een plastic zakje dat aan de canule is bevestigd. Om te voorkomen dat de karakteristieken van de opgevangen chymus veranderen, wordt minimaal één keer per uur het zakje geledigd.

6.7.2.2 Verzameling van de chymus bij toepassing van de slachttechniek

- Euthanaseren:

De varkens worden in slaap gebracht met een gebruikelijk sedativum, gevolgd door een overdosis met het euthanaticum T61 (of qua werking vergelijkbaar product) in het hart.

- Deel van het ileum waaruit chymus wordt verzameld

Na euthanaseren wordt het varken op de rug gelegd en aan de ventrale zijde opengesneden. Het ileum wordt geïdentificeerd en 100 cm en 10 cm voor het begin van het caecum afgebonden. Tussen het toedienen van het euthanaticum en het afbinden van bedoelde sectie van het ileum mag maximaal 15 minuten verstrijken.

Vervolgens wordt in de afgebonden sectie van het ileum een snede gemaakt voor het verzamelen van de chymus.

Als de chymus niet vanzelf uit de afgebonden ileumsectie stroomt, wordt deze hier voorzichtig uit geperst met de hand.

6.7.2.3 Bewaring

Na weging (tot op 0,1 g) wordt de geproduceerde chymus zo snel mogelijk afgekoeld tot $\leq 0^{\circ}$ C en vervolgens gedurende de rest van de verzamelperiode bij -20° C bewaard, zodat eventuele veranderingen in de samenstelling van de chymus minimaal zijn. In alle gevallen

wordt na afloop van de verzamelperioden de per varken geproduceerde hoeveelheid chymus bij ≤ -20 °C bewaard zonder toevoeging van conserveerstoffen, tenzij dit in het proefplan anders is aangegeven.

6.7.2.4 Bemonstering chymus

De per varken verzamelde totale hoeveelheid chymus wordt gehomogeniseerd en vervolgens wordt het benodigde aantal identieke submonsters genomen voor analyse en bewaring.

Voor de submonsters voor analyse geldt het volgende:

- Eén of meer submonsters "natte" chymus voor analyse op N en droge stof (en in bepaalde gevallen VFA).
- Eén of meer submonsters waarin na vriesdrogen en malen (1 mm zeef laboratoriummolen) de overige analyses worden uitgevoerd.

6.8 Laboratoriumanalyses in rantsoen, proefvoeder(s), basisvoeder(s) en chymus

Tabel 2. Standaard in testgrondstof, basisvoeraandeel in het testrantsoen, basis- en testrantsoen en chymus uit te voeren analyses.

Parameter	testgrondstof, basisvoeraandeel in het testrantsoen, basis- en testrantsoen) ¹⁾³⁾	Chymus	Analysemethode
Vocht	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	totaal-N vlg. Dumas-methode (Merz, W.; 1968)/N vlg. Kjeldahl (ISO 5985, NEN 3330); beide vermenigvuldigd met 6,25
RVET	X		Extractie met petroleumether (NEN 3148, ISO 6492) na voorafgaande hydrolyse met HCl (Eg L15/29-30 methode B)
RC	X		Gloeiverlies bij 550°C na koken met verdund H ₂ SO ₄ en verdunde KOH (NEN 5415; ISO/DP 6865)
Zetmeel (Ewers) ²⁾	X		Polarimetrisch meten van zetmeel in het 40 % ethanol precipitaat volgens Ewers (NEN 3572)
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)
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 (Smits et al. 1994)
Aminozuren	X	X	ISO TC34/SC 10

Parameter	testgrondstof, basisvoeraandeel in het testrantsoen, basis- en testrantsoen) ^{1) 3)}	Chymus	Analysemethode
Chroomoxide (indicator) ¹⁰	X	X	Williams et al. (1962)

- 1): Basisvoeder(s) alleen indien het rantsoen niet bestaat uit één vooraf voor de gehele proef bereid homogeen mengsel.
- 2): Afhankelijk van de grondstof (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 chymus enzymatisch te worden geanalyseerd.
- 3): In veel gevallen is het voor een goede karakterisering van de testgrondstof gewenst / noodzakelijk ook de gehalten aan NDF, ADF en ADL (Van Soest, 1967) te bepalen.

In Tabel 2 wordt een overzicht gegeven van de standaard uit te voeren analyses en de daarbij behorende analysemethode.

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 verwezen naar paragraaf 6.4.2.

In proefvoeder en basisvoeder(s) worden de analyses (minimaal) in tweevoud uitgevoerd, hetzij door simlo analyses in duplo submonsters, hetzij door duplo analyses in één submonster te doen. In het rantsoen worden, als proefvoeder en één of meer basisvoerders gemengd worden, ter controle op de menging enkele relevante analyses uitgevoerd (zie paragraaf 6.4.4).

De chymus wordt per dier op dezelfde wijze geanalyseerd. Wanneer bepaalde analyses in enkelvoud worden uitgevoerd, dient dit in het proefplan te worden aangegeven.

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

7 RESULTATEN

7.1 Berekening

Bij caecum-gecanuleerde dieren is voor de berekening van de verteerbaarheid het gebruik van een indicator voorgeschreven. Bij de indicatorberekening wordt het onverteerde deel van een nutriënt berekend aan de hand van de verhouding tussen indicator en nutriënt in rantsoen en chymus. Hierbij wordt aangenomen dat de indicator inert is (niet uit de darm wordt geabsorbeerd).

Het principe van de berekening van de verteringscoëfficiënt is:

$$VC_{\text{nutriënt}} = \{1 - ((\text{g indicator}_{\text{rants.}} / \text{g nutriënt}_{\text{rants.}}) / (\text{g indicator}_{\text{digesta}} / \text{g nutriënt}_{\text{digesta}}))\} * 100\%$$

Bij indirecte proeven gaat men uit van additiviteit van de verteerbare bestanddelen. De verteerbaarheid van het (de) basisvoeder(s) is vastgesteld in een andere ileale verteringsproef binnen dezelfde proefserie met dezelfde of andere dieren.

¹⁰ In plaats van chroomoxide kunnen als indicator ook worden gebruikt TiO₂ of YtO₂.

Bij indirecte metingen worden de VC's van de diverse nutriënten in het proefvoeder via verschilberekening uit de VC's van rantsoen I en rantsoen II berekend (zie paragraaf 3). Daarbij wordt, om de VC's van het proefvoeder per dier te kunnen berekenen, gerekend met de VC's van rantsoen I bij het betreffende dier en de gemiddelde VC's van rantsoen II. Vervolgens wordt per nutriënt in het proefvoeder de gemiddelde VC berekend. Om zicht te krijgen op de nauwkeurigheid van de gemiddelde waarde wordt ook de SD berekend.

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.

7.2.2 Uitbijtertest

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

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

Om vast te stellen of een varken 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 dier een uitbijter is, worden alle resultaten van dit dier als uitbijter beschouwd en buiten verdere berekeningen gelaten.

Een dier is een uitbijter wanneer $VCOS$ valt buiten de range $VCOS_{\text{gemiddeld}} \pm 2,5 * SD$.

In de rapportage wordt vermeld wanneer op basis van dit criterium een dier als uitbijter wordt geëlimineerd. Hoewel vermelding van de gemiddelde waarde en de SD **inclusief** de uitbijter kan plaatsvinden (en wellicht gewenst is), dienen in dit geval de gemiddelde waarde en 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 het dier. Wanneer echter de VC van ≥ 5 aminozuren een uitbijter is, wordt het dier als uitbijter aangemerkt.

7.3 Weergave resultaten, rapportage

7.3.1 Rapportage

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

In de rapportage van een bepaling van de schijnbare ileale verteerbaarheid van een proefvoeder bij varkens 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; de rest zonder decimalen)
- Gemiddelde opname van de rantsoenen tijdens de hoofdperiode met de SD en het aantal herhalingen (n). Tevens dient het gemiddelde gewicht, bepaald enkele dagen voor het einde

- van de adaptatieperiode (zie 6.5), van de dieren (met de SD) te worden vermeld.
- Gemiddelde waarden van de VC's van de onderzochte nutriënten in het rantsoen met de SD en het aantal herhalingen (n). In geval van een indirecte meting dient m.b.t. de VC's van rantsoen II te worden vermeld of deze bij dezelfde dan wel bij andere dieren zijn bepaald.
- Gemiddelde waarden (en de SD) van de VC's in procenteenheden van elke onderzochte nutriënt van het proefvoeder (tot op één decimaal nauwkeurig).
- Vermelding van het, op grond van de gemeten verteerbaarheden, gerealiseerde voerniveau.
- 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 testproduct(en), basis- en proefvoeder(s) en (per dier) de chymus worden na oplevering van het definitieve rapport gedurende minimaal 3 jaar bewaard. Bewaarmonsters "natte" chymus kunnen worden opgeruimd zodra de opdrachtgever akkoord is gegaan met de onder 7.3.1 genoemde rapportage; tot dat moment worden de monsters afgesloten bij $\leq -15^{\circ}\text{C}$ 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.

Als het de bedoeling is dat de resultaten van een verteringsproef door het Centraal Veevoederbureau worden betrokken bij het vaststellen van tabelwaarden, worden de hiervoor relevante gegevens na vaststelling van de definitieve rapportage doorgegeven aan het CVB ter opneming in de Veevoederdatabank.

10 LITERATUUR

Agricultural Research Council (ARC). 1981. The Nutrient Requirements of Pigs.

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

Leeuwen, P. van, J. Huisman, M.W.A. Verstegen, M.J. Baak, D.J. van Kleef, E.J. van Weerden, L.A. den Hartog (1988). A new technique for collection of ileal chyme in pigs. 4th Int. Congress on Digestive Physiology in the pig. June 1988, Jablona, Poland.

Leeuwen, P. van, D.J. van Kleef, G.J.M. van Kempen, J. Huisman, M.W.A. Verstegen (1991). The Post Valve T-Caecum cannulation technique in pigs applicated to determine the digestibility of amino acids in maize, groundnut and sunflower meal. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr. 65, 183 - 193.

Merz, W. (1968). Automatische Schnellmethode zur Stickstoffbestimmung. Fres. Z. A. Chem. 237.

Mroz, Z., A.W. Jongbloed, P.A. Kemme (1994). Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs. *J. Anim. Sci.* 72, 126 - 132.

Mroz, Z., G.C.M. Bakker, A.W. Jongbloed, R.A. Dekker, R. Jongbloed, A. van Beers (1995). Apparent digestibility of nutrients in diets with different energy density, as estimated by direct and marker methods for pigs with or without ileo-cecal Cannulas. *J. Anim. Sci.* (submitted).

Stikstof en fosfor in de voeding van eenmagige landbouwhuisdieren in relatie tot de milieu-problematiek. Kwaliteitsreeks nr. 25 (1993). Uitgave: Produktschap voor Veevoeder, 's-Gravenhage.

Smits, B., A.H. van Gelder, R. Jongbloed, J.W. Cone (1994). Samenstelling van de koolhydraatfractie in aardappelpersvezels, aardappelstoomschillen, Bondatar, mycelium-spoeling, restgist en tarwe-indampconcentraat: Een oriënterende studie. Intern Rapport ID-DLO (vestiging Runderweg) no. 417, Lelystad.

Soest P.J.van, (1976). Development of a comprehensive system of feed analyses and its application in forages. *J.Anim.Sci.* 26-119-128.

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

Voedernormen Landbouwhuisdieren en voederwaardecijfers (CVB-reeks nr. 15) (1994). Uitgave: Centraal Veevoederbureau, Lelystad.

Williams, C.H., D.J. David, O. Lismaa (1962). The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.* 59, 381 - 385.