



Nr. 53 · December 1996

Effekten af fytasetilsætning på fordøjeligheden af fosfor i foderblandinger til svin

*Effect of microbial phytase supplementation
on apparent phosphorus digestibility
in pig diets*

Hanne Damgaard Poulsen
Afdeling for Ernæring

STATENS HUSDYRBRUGSFORSØG

Forskningscenter Foulum, Postboks 39, 8830 Tjele • Tlf. 89 99 19 00 • Fax 89 99 19 19
Forskningscenter Bygholm, Postboks 536, 8700 Horsens • Tlf. 75 60 22 11 • Fax 75 62 48 80

Statens Husdyrbrugsforsøg har til formål at gennemføre forskning samt indsamle og opbygge viden af betydning for erhvervsmæssigt husdyrbrug og jordbrugsteknik i Danmark. I forskningen skal der lægges vægt på ressourceudnyttelse, dyrevelfærd, internt og eksternt miljø, produkternes kvalitet og konkurrenceevne samt en hurtig og sikker formidling af resultaterne.

Institutionen omfatter følgende forskningsafdelinger: Afdeling for Ernæring, Afdeling for Råvarekvalitet, Afdeling for Avl og Genetik, Afdeling for Sundhed og Velfærd, Afdeling for Jordbrugsteknik og Produktionssystemer samt Centrallaboratorium. Servicefunktionerne varetages af Afdeling for Landbrugsdrift, Afdeling for

Stalddrift samt af Statens Husdyrbrugsforsøgs Sekretariat.

Husdyrforskningen finder fortrinsvis sted på Forskningscenter Foulum, mens den jordbrugstekniske forskning udføres på Forskningscenter Bygholm. Herudover har institutionen adgang til en række privat-/organisationsejede forsøgsstationer m.m.

Forskningsresultaterne publiceres i internationale, videnskabelige tidsskrifter samt i publikationer udgivet af Statens Husdyrbrugsforsøg. Abonnement på årsrapporter, forskningsrapporter, beretninger og informationsblad kan tegnes ved henvendelse til ovenstående adresse.

DANISH INSTITUTE OF ANIMAL SCIENCE

Research Centre Foulum, P.O. Box 39, DK-8830 Tjele • Tel +45 89 99 19 00 • Fax +45 89 99 19 19

Research Centre Bygholm, P.O. Box 536, DK-8700 Horsens • Tel +45 75 60 22 11 • Fax +45 75 62 48 80

The aim of the Danish Institute of Animal Science is to carry out research and accumulate knowledge of importance to animal husbandry and agricultural engineering. In the research, great importance is attached to the utilization of resources, environment, animal welfare, and to the quality and competitiveness of the agricultural products along with a rapid and efficient dissemination of the results.

The institute comprises six research departments: Dept. for Nutrition, Dept. for Product Quality, Dept. for Breeding and Genetics, Dept. for Animal Health and Welfare, Dept. for Agricultural Engineering and Production Systems, and a Cen-

tral Laboratory. Service departments include Dept. for Farm Management and Services, Dept. for Livestock Management, and a Secretariat.

The research departments for animal science together with management and service departments are located at Research Centre Foulum. The technical research takes place at Research Centre Bygholm.

Research results are published in international scientific journals and in publications from the Danish Institute of Animal Science. For subscription to reports and other publications please contact the above address.

Effekten af fytasetilsætning på fordøjeligheden af fosfor i foderblandinger til svin

*Effect of microbial phytase supplementation
on apparent phosphorus digestibility
in pig diets*

Hanne Damgaard Poulsen
Afdeling for Ernæring

Indholdsfortegnelse

Indholdsfortegnelse	3
Contents	4
Sammendrag	5
Summary	7
1 Indledning	9
2 Delforsøg 1: Effekt af Phytase Novo på fosfors fordøjelighed i en pelleteret byg-baseret foderblanding givet til svin	
2.1 FORMÅL	10
2.2 MATERIALE OG METODER	10
2.3 RESULTATER OG DISKUSSION	10
2.4 DELKONKLUSION	14
3 Delforsøg 2: Betydningen af foderets indhold af calcium på effekten af Phytase Novo på fosfors fordøjelighed i en ikke-varmebehandlet byg-baseret foderblanding givet til svin	
3.1 FORMÅL	14
3.2 MATERIALE OG METODER	14
3.3 RESULTATER OG DISKUSSION	15
3.4 DELKONKLUSION	19
4 Delforsøg 3: Effekt af tilsætning af Natuphos eller Phytase Novo på fosfors fordøjelighed i en ikke-varmebehandlet hvedebaseret foderblanding givet til svin	
4.1 FORMÅL	20
4.2 MATERIALE OG METODER	20
4.3 RESULTATER OG DISKUSSION	22
4.4 DELKONKLUSION	28
5 Samlet diskussion	29
6 Konklusion	33
7 Anerkendelser	34
8 Referencer	35

Contents

Contents in Danish.....	3
Contents in English.....	4
Summary in Danish.....	5
Summary in English.....	7
1 Introduction.....	9
2 Experiment 1: The effect of Phytase Novo on apparent phosphorus digestibility in a barley based diet fed to pigs	
2.1 AIM.....	10
2.2 MATERIAL AND METHODS.....	10
2.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	10
2.4 SUBCONCLUSION.....	14
3 Experiment 2: Influence of dietary calcium on the effect of Phytase Novo supplementation in a barley based diet fed to pigs	
3.1 AIM.....	14
3.2 MATERIAL AND METHODS.....	14
3.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	15
3.4 SUBCONCLUSION.....	19
4 Experiment 3: The effect of Natuphos or Phytase Novo supplementation on apparent phosphorus digestibility in a wheat based diet fed to pigs	
4.1 AIM.....	20
4.2 MATERIAL AND METHODS.....	20
4.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	22
4.4 SUBCONCLUSION.....	28
5 Final discussion.....	29
6 Conklusion.....	33
7 Acknowledgements.....	34
8 References.....	35

Sammendrag

Det gennemførte projekt havde til formål at belyse effekten af tilsætning af mikrobiel fytase på fosfors tilsyneladende fordøjelighed. Projektet omfattede 3 delforsøg, hvor delforsøg 1 og 2 blev gennemført med bygbase-rede blandinger og delforsøg 3 med hvede-baserede blandinger. I alle de undersøgte blandinger med fytasetilsætning var der ikke tilsat uorganisk fosfat, så fosforindholdet i blandingerne bestod kun af det naturligt forekommende fosfor. Kornet til delforsøg 1 blev pelleteret ved en temperatur på omkring 600 C før iblanding af fytase. Foderet til delforsøg 2 og 3 blev ikke opvarmet eller pelleteret. Forsøget blev gennemført med sogrise, som blev opstaldet i opsamlingsbure og fik isat urinkatetre, således at opsamling af gødning og urin kunne foretages særskilt. På baggrund af registrering af foder-, gødnings- og urinmængde sammenholdt med kemiske analyser af foder, gødning og urin blev grisenes nettoabsorption, udskillelse og aflejring af fosfor og calcium bestemt. Ligeledes blev fordøjeligheden af fosfor bestemt.

Resultaterne viste, at fosfors fordøjelighed steg, når foderet blev tilsat mikrobiel fytase. I delforsøg 1 blev fordøjeligheden af fosfor forbedret fra 45 til 63%, når det bygbase-rede foder blev tilsat fytase (Phytase Novo). Delforsøg 2 viste, at effekten af fytasetilsætning på fosfors fordøjelighed ikke var påvirket af foderets indhold af calcium, når dette lå mellem 3,4 og 6,9 g/kg foder. De samme calciumdoseringer påvirkede heller ikke fordøjeligheden af fosfor i foder uden tilsætning af mikrobiel fytase. Generelt steg fordøjeligheden af fosfor fra 40 til 58%, når det bygbase-rede foder blev tilsat fytase (Phytase Novo).

Delforsøg 3 viste, at i et hvedebaseret foder var effekten af fytasetilsætning mindre end i bygbase-rede blandinger. Fordøjeligheden steg generelt fra 57 til 62-66%, som følge af

fytasetilsætning. Årsagen til forskellen i fosfors fordøjelighed mellem byg- og hvede-blandinger skal formentlig ses som en følge af, at hvede har en langt højere aktivitet af naturligt fytase end byg. Denne højere plante-fytaseaktivitet medfører, at en meget større del af fytatet spaltes, hvorved fosfors fordøjelighed bliver markant større i hvedeblandinger. Det bør fremhæves, at dette resultat ikke vil være gældende for hvedeblandinger, der er blevet varmebehandlet f.eks. i henhold til salmonellahandlingsplanen, hvor plante-fytasen inaktiveres. Derfor må det forventes, at resultatet kun er gældende for gårdfremstillet foder. I delforsøg 3 blev effekten af to typer fytase undersøgt, men der var ikke signifikant forskel i effekten af de to produkter (Natuphos og Phytase Novo).

Delforsøg 3 viste endvidere, at tilsætning af 500 FTU fytase forbedrede indholdet af fordøjeligt fosfor i blandingen med omkring 0,24 til 0,40 g/kg foder (hvedebaseret, ikkevarmebe-handlet). Da de fleste publicerede forsøg med tilsætning af mikrobiel fytase er foretaget på foder baseret på majsdominerede blandinger, savnes der flere undersøgelser med byg- og hvedebaserede foderblandinger, der er relevante for dansk svineproduktion. Desuden savnes der forsøg til belysning af effekten af varmebehandling og fytasetilsætning på fosfors fordøjelighed i byg- og hvedebaserede blandinger. Sådanne forsøg vil skabe klarhed over, hvor meget fordøjeligt fosfor tilsætning af f.eks. 500 FTU fytase vil svare til under danske forhold.

Sammenfattende viste delforsøgene, at tilsætning af mikrobiel fytase forbedrede fordøjeligheden af fosfor, hvorved udskillelsen af ufordøjet fosfor blev reduceret. Effekten af fytase var størst på bygbase-rede (omkring 20 procentenheder) og mindst på hvedebaserede blandinger (omkring 8 procentenheder). In-

gen af de undersøgte blandinger var varmebehandlet i henhold til salmonellahandlingsplanen, hvorfor resultaterne sandsynligvis kun er gældende for gårdfremstillet foder. Det må forventes, at tilsætning af fytase vil have større effekt på fabriksfremstillet foder, hvor plantefytasen inaktiveres under opvarmningen af foderet. Dette forudsætter, at tilsætningen af mikrobiel fytase foretages, således at det ikke også bliver inaktiveret. Den største forskel mellem fabriksfremstillet og gårdfremstillet foder må forventes for

hvede, som har en højere naturlig fytaseaktivitet end byg. Der sås ikke signifikante forskelle mellem effekten af Natuphos og Phytase Novo. Calciumindholdet i foderet havde i forsøget ingen indflydelse på fordøjeligheden af fosfor, uanset om bygblandingen blev tilsat mikrobiel fytase eller ej. Derimod var der et tæt samspil mellem calcium og fosfor ved aflejringen af begge mineraler.

Nøgleord: Fosfor, fytase, calcium, fordøjelighed, udskillelse, udnyttelse, svin

Summary

The aim of the study was to determine the effect of microbial phytase on the apparent digestibility of phosphorus. The study comprised three experiments: Experiment 1 and 2 on barley diets and experiment 3 on wheat diets. None of the diets that were tested with or without microbial phytase were supplemented with inorganic phosphates. The cereals in experiment 1 were pelleted at 600 C before microbial phytase was added. The diets used in experiment 2 and 3 were not heat treated nor pelleted. The experiments were carried out with female pigs fitted with urinary bladder catheters for separate total collection of urine and faeces for 7 days. Based on the recordings of the amount of diet, faeces and urine together with the concentrations of phosphorus and calcium in diets, faeces and urine the net absorption, retention and excretion of phosphorus and calcium were determined. Furthermore, the digestibilities of phosphorus and calcium were calculated.

The results showed that the digestibility of phosphorus increased as microbial phytase was added to the diets. In experiment 1, the phosphorus digestibility increased from 45 to 63%, when the barley diet was supplemented with phytase (Phytase Novo). Experiment 2 showed that the effect of phytase on phosphorus digestibility was not affected by the calcium concentration in the diet (3.4 to 6.9 g/kg diet). Furthermore, the calcium content in the diet did not affect the phosphorus digestibility in the diets with-out added phytase. In general, the digestibility of phosphorus increased from 40 to 58%, when the barley diets in experiment 2 were added phytase (Phytase Novo).

Experiment 3 showed that the effect of microbial phytase addition was smaller in wheat diets compared to barley diets. The digestibility of phosphorus increased from 57

to 62-66% when phytase was added to wheat diets. The difference in effect of phytase is probably caused by the fact that the activity of intrinsic phytase is much greater in wheat than in barley. This means that a greater proportion of phytate is degraded in wheat compared to barley diets. It should be pointed out that this applies only when the diets are not heat treated due to e.g. protection against salmonella infections. Consequently, the obtained results are probably solely valid for on farm produced diets. In experiment 3 no significant differences in effects of the two types of phytase (Natuphos and Phytase Novo) could be detected.

Furthermore, experiment 3 showed that 500 FTU phytase added to the wheat diet (not heat treated) increased the content of digestible phosphorus by 0.24 to 0.40 g/kg diet. As most of the published results on phytase supplementation are based on maize, there is a need for more investigations based on wheat and barley diets. In addition there is a demand for experiments on the interaction between heat treatment and phytase supplementation. Such studies will provide the background for the determination of how much digestible phosphorus that corresponds to e.g. 500 FTU phytase under conditions comparable to Danish pig production.

In conclusion, addition of microbial phytase increased the digestibility of phosphorus and decreased the excretion of undigested phosphorus. The improving effect of phytase was greatest in barley diets (about 20 percentage points) and smallest in wheat diets (about 8 percentage points). As none of the tested diets were heat treated, the obtained results will solely be reliable for on farm produced diets. It might be expected that the effect of phytase supplementation will be greater in industrial produced diets that are now gene-

rally heat treated in agreement with the salmonella action programme. Especially this will be the case in diets containing a great proportion of wheat. No significant difference between the two phytase sources Natuphos and Phytase Novo could be detected. The dietary calcium content did not affect the digestibility of phosphorus in the barley diet

regardless of phytase supplementation. On the other hand there was a close relationship between calcium and phosphorus concerning the retention of both minerals.

Keywords: Phosphorus, phytase, calcium, digestibility, retention, excretion, pigs

1 Indledning

I kornbaserede foderblandinger er fordøjeligheden af fosfor ofte under 50%. En medvirkende årsag er, at op til 80% af fosfor i plantefrø og kerner er bundet i salte af fytinsyre.

Disse fytater er meget vanskelige at omsætte for svin. Nedbrydningen af fytat kan dog øges under tilstedeværelsen af enzymet fytase, som katalyserer spaltningsprocesserne. Herved frigøres fosfor til absorption. Fytase findes naturligt i plantefrø/kerner (plantefytase), og desuden katalyserer enzymer, der udskilles af tarmcellerne og mikroflore, nedbrydningen af fytat i tarmen. I dag fremstilles fytase også ved en bioteknologisk proces, og denne mikrobielle fytase kan tilsættes foderet for at øge nedbrydningen af fytat. Der er gennem de senere år gennemført en række undersøgelser med tilsætning af fytase til svinefoder (f.eks. Simons et al., 1990; Näsi, 1990; Jongbloed et al., 1992; Cromwell et al., 1993; Mroz et al., 1994; Pal-lauf et al., 1994a,b; Windisch et al., 1994; Lantzsch et al., 1995; Rodehutschord et al., 1996). Disse forsøg har vist, at tilsætning af mikrobiel fytase generelt øger indholdet af fordøjeligt fosfor i foder til svin, men størrelsen af effekten er varierende.

Fytinsyre kan danne komplekser med mineraler som calcium, zink, jern m.fl., men kompleksdannelsen er afhængig af pH. Da fytatkomplekserne er tungtopløselige, forhindres absorptionen af de bundne mineraler. Derfor har der været interesse for at afklare om et højt indhold af calcium i fode-

ret kan forværre udnyttelsen af fosfor fra fytat. Forsøg med fytatrige blandinger har da også vist, at fosformangelsymptomerne er blevet mere markante, når foderets indhold af calcium er højt. Fordøjeligheden af det fytatbundne fosfor var dog ikke nedsat, så

den negative effekt skyldes måske snarere uheldig vitamin D tildeling (Pointillart et al., 1989).

Inkubationsstudier har vist, at effekten af hvedefytase på nedbrydningen af fytat og dermed frigørelsen af fosfor blev reduceret ved tilstedeværelsen af calciumsalte (Bos, 1979). Disse iagttagelser gør, at der er usikkerhed om, hvorvidt calcium påvirker effekten af fytase på fosfors fordøjelighed.

Denne rapport omhandler resultaterne fra 3 delforsøg, som er gennemført i perioden 1994-1996. Formålet med forsøgene var:

1. at teste effekten af en nyudviklet mikrobiel fytase på fordøjeligheden af fosfor (Delforsøg 1: Effekt af Phytase Novo på fosfors fordøjelighed i en pelleteret byg-baseret foderblanding til svin.)
2. at undersøge om effekten af mikrobiel fytase på fosfors fordøjelighed afhænger af foderets indhold af calcium (Delforsøg 2: Betydningen af foderets indhold af calcium på effekten af Phytase Novo på fosfors fordøjelighed i en ikke-varmebehandlet byg-baseret foderblanding til svin).
3. at teste og sammenligne effekten af to typer og to niveauer af mikrobiel fytase på fosfors fordøjelighed. (Delforsøg 3: Effekt af tilsætning af Natuphos eller Phytase Novo på fosfors fordøjelighed i en ikke-varmebehandlet hvedebaseret foderblanding til svin).

De tre forsøg gennemgås hver for sig, hvorefter resultaterne diskuteres samlet i kapitel 5.

2 Delforsøg 1

2.1 FORMÅL

Formålet med dette delforsøg var at undersøge effekten af en nyudviklet mikrobiel fytase (Phytase Novo) på fordøjeligheden af fosfor.

2.2 MATERIALE OG METODER

Forsøget gennemførtes som et balanceforsøg med 12 sogrise, 6 par kuldsøskende. Ved en vægt på 45 kg blev grisene fordelt kuldvis på 2 hold, som fik foder henholdsvis med og uden tilsætning af mikrobiel fytase. Grundfoderet blev baseret på byg, hvede og sojaskrå med byg som den dominerende kornart, og det blev sammensat, så gældende danske normer for alle næringsstoffer på nær fosfor blev opfyldt. Grundfoderets sammensætning og beregnede indhold er vist i tabel 2.1.

Det anvendte foder blev ikke tilsat uorganisk foderfosfat, hvorfor foderets indhold af fosfor udelukkende var af vegetabilsk oprindelse. Forud for blandingen af foderet blev de anvendte partier af byg og hvede pelleteret (omkring 60°C). Efter blandingen af grundfoderet blev det delt i to partier, og forsøgsfoderet blev tilsat fytase svarende til 1500 FTU/kg foder.

Grisene blev opstaldet i opsamlingsbure, hvor de efter 5 dages tilvænning fik isat urinkatetre, således at opsamling af gødning og urin kunne foretages særskilt. Selve opsamlingsperioden varede derefter 7 dage. Mængden af produceret gødning og urin blev registreret for den enkelte gris, og

der blev udtaget repræsentative prøver til analyse. Desuden blev grisene vejede ved starten og afslutningen af forsøget.

Foderet blev analyseret for tørstof, aske, kvælstof, HCl-fedt, træstof, fosfor, fytatbundet fosfor, calcium og fytaseaktivitet. Gødning blev analyseret for tørstof, aske, kvælstof, HCl-fedt, træstof, fosfor og calcium. Urin blev analyseret for kvælstof, fosfor og calcium.

På basis af registreringerne og analyseresultaterne blev grisenes daglige aflejrings, udskillelse og nettoabsorption (= den tilsyneladende fordøjede mængde) beregnet for fosfor og calcium.

Den statistiske analyse blev gennemført ved hjælp af standardprogrammer (SAS, 1989), og resultaterne blev analyseret efter følgende model:

$$Y = m + L + \text{fyt} + e,$$

hvor

- Y = den undersøgte egenskab
- m = mindste kvadraters gennemsnit
- L = effekt af kuld
- fyt = effekt af fytasetilsætning
- e = den tilfældige restvariation, som antages at være uafhængig og N (0, (2)

Resultaterne er angivet som mindste kvadraters gennemsnit med tilhørende middelfejl (s.e.m.).

2.3 RESULTATER OG DISKUSSION

Foderets kemiske sammensætning er vist i tabel 2.2. Generelt viste den kemiske analyse god overensstemmelse mellem det be-

regnede og det fundne indhold af fosfor. Analysen viste endvidere, at knap 60% af fosforet var bundet i fytatsalte.

Tabel 2.1 Grundfoderets procentvise sammensætning/Composition of the basic diet, %

	%
Byg/Barley	50,8
Hvede/Wheat	20,0
Sojaskrå/Soybean meal	24,0
Animalsk fedt/ Anim. Fat	2,0
Melasse/Molasses	1,0
Kridt/ Calcium carbonate	1,3
Salt/Sodium chloride	0,4
Lysin, 40%/Lysine, 49%	0,3
Vit./min.blanding/ Vit.min. premix	0,2
<u>Beregnet indhold/Calculated content:</u>	
FEs/kg foder/FUp/kg diet	1,06
Pr. FEs/Per FUp:	
g ford. protein/g digest.Protein	145
g fosfor/g phosphorus	3,7
g calcium/g calcium	6,0

Fytaseaktiviteten blev bestemt til 214 og 1280 PU/kg foder for grundfoderet henholdsvis forsøgsfoderet tilsat fytase (efter Boisen, 1987; 1 PU = 1 mmol frigjort fosfor pr. minut ved pH 5.5, 37°C). Resultatet viser, at det ikke var muligt at genfinde den tilsatte mængde fytaseaktivitet. Dette tyder på, at metoden, der er tilpasset til bestemmelse af fytaseaktivitet i foderstoffer, måske ikke umiddelbart kan anvendes til analyse af mikrobiel fytase, der

tilsættes foderet. Det kan dog også skyldes andre forhold som f.eks. opblanding, prøveudtagningsmængde etc. Se senere diskussion.

Alle grisene gennemførte forsøget, og sundhedstilstanden var god. Tilvæksten var, i de 12 dage forsøget varede, ikke påvirket af forsøgsbehandlingen og var i gennemsnit 470 g/dag (SD 92 g).

Tabel 2.2 Grundfoderets kemiske sammensætning/Chemical composition of the basic diet

Tørstof, %/Dry matter, %	87,0
<u>% af tørstof/Per cent of dry matter:</u>	
Råprotein/Crude protein	22,8
HCl-fedt/Fat	6,1
Træstof/Crude fibre	4,2
Aske/Crude ash	5,1
Fosfor/Phosphorus	0,40
Fytat-fosfor/Phytate phosphorus	0,23
Calcium/Calcium	0,73
<u>Pr. kg foder/Per kg diet:</u>	
g fosfor/g phosphorus	3,5
g calcium/g calcium	6,4

Aflejrings- og udskillelsesmønsteret for fosfor er angivet i tabel 2.3, hvoraf det fremgår, at grisene, der fik foder tilsat fytase udskilte væsentligt mindre fosfor med gødningen. Derimod var fosforudskillelsen med urinen ikke påvirket af forsøgsbehandlingen. Generelt var fosforudskillelsen med urinen meget lille, hvilket viser, at grisene i begge grupper ikke fik overskud af fosfor. Nettoabsorptionen og dermed den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor var signifikant påvirket af forsøgsbehandlingen, idet der sås en stigning på 41%, når foderet blev tilsat fytase. Tilsvarende effekt sås på aflejrings af fosfor.

På baggrund af forsøget blev foderets indhold af fordøjeligt fosfor bestemt. Beregningerne viste, at grundfoderet uden fytase havde et indhold på 1,5 g fordøjeligt fosfor/FEs, og at tilsætning af fytase øgede indholdet til 2,1 g fordøjeligt fosfor/FEs (svarende til fra 1,6 til 2,2 g/kg foder). Tidligere forsøg har vist, at 2,2 g fordøjeligt fosfor/FEs kan dække

voksende grises fosforbehov (Poulsen, 1994; Nielsen, 1995). Da udskillelsen af fosfor med urin i det aktuelle forsøg var meget ringe, blev ingen af de to hold grise overforsynet med fosfor. Hvorvidt grisene, der fik 2,1 g fordøjeligt fosfor/FEs, blev underforsynet med fosfor, kan dog ikke afgøres i det aktuelle forsøg.

Aflejrings- og udskillelsesmønsteret for calcium er vist i tabel 2.4. Det fremgår, at udskillelsen af calcium med både gødning og urin var nedsat, når foderet blev tilsat fytase. Dette indebærer, at calciumaflejrings blev signifikant forøget ved fytasetilsætning Denne effekt skal ses som en afledt effekt, idet reguleringen af calcium- og fosforomsætningen er snævert forbundne, hvorved en forøget aflejrings af fosfor i knoglerne implicit medfører, at der også aflejres mere calcium. Derfor har fosfor hos kontrolholdet været begrænsende for calciumaflejrings og således også for calciumudnyttelsen.

Tabel 2.3 Aflejring og udskillelse af fosfor/Retention and excretion of phosphorus

	Fytase/Phytase		s.e.m.	Signifikans/ Significance
	-	+		
Fosfor, g/dag/Phosphorus, g/day:				
Fortæret/Ingested	4,86	4,86		
Udskilt/Excreted:				
Gødning/Faeces	2,69	1,81	0,05	***
Urin/Urine	0,03	0,03	0,01	NS
Absorberet (netto)/ Absorbed (net)	2,16	3,05	0,05	***
Aflejret/ Retained	2,13	3,02	0,05	***
Tilsynel. Fordøjeligh., %/App. digest., %	44,6	62,8	0,9	***
Aflejret:fortæret, %/Retained ingested, %	43,9	62,1	0,9	***

***: $p \leq 0,001$; NS: $p > 0,05$

Tabel 2.4 Aflejring og udskillelse af calcium/Retention and excretion of calcium.

	Fytase/Phytase		s.e.m.	Signifikans/ Significance
	-	+		
Calcium, g/dag/Calcium, g/day:				
Fortæret/Ingested	8,94	8,94		
Udskilt/Excreted:				
Gødning/Faeces	4,88	4,17	0,15	**
Urin/Urine	1,02	0,30	0,09	***
Absorberet (netto)/Absorbed (net)	4,06	4,77	0,15	**
Aflejret/ Retained	3,04	4,48	0,12	***
Tilsynel. fordøjeligh., %/App. digest., %	45,4	53,4	1,6	**
Aflejret:fortæret, %/Retained:ingested, %	34,1	50,1	1,4	***

** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

En forhøjet udskillelse af calcium med urin er fysiologisk et tegn på, at fosfortildelingen er mangelfuld. Normalt ligger calciumudskillelsen med urin hos denne aldersgruppe af grise på omkring 0,09 g/dag (Poulsen, 1994).

Dette tyder på, at også de grise, der fik foder tilsat fytase, ikke fik helt den mængde fordøjeligt fosfor, de var i stand til at aflejre.

2.4 DELKONKLUSION

Forsøget viste, at tilsætning af mikrobiel fytase til en pelleteret (60°C) foderblanding baseret på byg, hvede og sojaskrå forøgede den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor fra 45 til 63%, altså en forbedring på 40%. Samtidig viste ekskretions- og aflejningsmønstret for både fosfor og calcium, at en dosering på 2,1 g fordøjeligt fosfor /FEs er tæt på at dække ungsvins behov.

3 Delforsøg

3.1 FORMÅL

Formålet med delforsøget var at undersøge, om effekten af mikrobiel fytase (Phytase Novo) på fordøjeligheden af fosfor påvirkedes af foderets indhold af calcium.

3.2 MATERIALE OG METODER

Forsøget blev gennemført som et balanceforsøg, hvor aflejningsmønstret for fosfor og

calcium blev bestemt. Forsøget gennemførtes med 8 kuld á 6 sogrise med en begyndelsesvægt på omkring 37 kg. Grisene blev opstaldet i opsamlingsbure, hvor der efter en tilvænningsperiode på 5 dage og isætning af urinkatetre opsamledes gødning og urin i 7 dage. Grisene blev fordelt kuldvis på forsøgsbehandlingerne, som vist i tabel 3.1.

Tabel 3.1 Forsøgsplan, hvor tildelingen af fytase og calcium varierer/Experimental design

	Forsøgsbehandling/Treatment					
	1	2	3	4	5	6
Calcium, g/kg	4	6	8	4	6	8
Phytase Novo	-	-	-	+	+	+

Som grundblanding anvendtes samme foderblanding som i delforsøg 1, hvor byg og hvede i det aktuelle forsøg dog ikke blev varmebehandlet (pelleteret). Grundfoderet blev sammensat således, at gældende danske normer for alle næringsstoffer på nær fosfor og calcium var opfyldte, og sammensætningen af grundblandingen er vist i tabel 3.2. Først blev der lavet ét parti grundblanding,

som blev delt i 3 partier, hvor indholdet af calcium blev tilpasset de tre niveauer, 4, 6 eller 8 g calcium/kg. Herefter blev de 3 partier hver delt i 2 dele, som fik tilsat henholdsvis ikke tilsat 1500 FTU fytase (Phytase Novo). Alle grisene fik således den samme mængde af alle andre næringsstoffer inklusive fosfor (udelukkende naturligt forekom-

mende fosfor uden tilskud af uorganisk foderfosfat) end calcium.

Foderet blev analyseret for tørstof, aske, kvælstof, HCl-fedt, træstof, bruttoenergi, fytaseaktivitet, fytatbundet fosfor, fosfor og calcium. Gødningen blev analyseret for tørstof, aske, kvælstof, HCl-fedt, bruttoenergi,

Tabel 3.2 Grundfoderets sammensætning/Composition of the basic diet

	%
Byg/Barley	51,5
Hvede/Wheat	20,3
Sojaskrå/Soybean meal	24,3
Animalsk fedt/ Anim. fat	2,0
Melasse, sukkerroe/Molasse	1,0
Salt/Sodium chloride	0,4
Lysin, 40%/Lysine, 40%	0,3
Vit./min.blanding/ Vit./min. premix	0,2
<u>Beregnet indhold/Calculated content:</u>	
FES/kg foder/FUp/kg diet	1,08
<u>Pr. FEs/Per FUp:</u>	
g ford. protein/ g digest. protein	145,0
g fosfor/g phosphorus	3,2

Den statistiske analyse blev gennemført ved hjælp af standardprogrammer (SAS, 1989), og resultaterne blev analyseret efter følgende model:

$$Y = m + L + \text{fyt} + \text{ca} + \text{fyt} \cdot \text{ca} + e,$$

hvor

- Y = den undersøgte egenskab
- m = mindste kvadraters gennemsnit
- L = effekt af kuld
- fyt = effekt af fytasetilsætning
- ca = effekt af calciumdosering
- fyt*ca = effekt af vekselvirkning mellem fytasetilsætning og calciumdosering
- e = tilfældig restvariation, som antages at være uafhængig og $N(0,2)$.

Resultaterne er angivet som mindste kvadraters gennemsnit.

fosfor og calcium. Urin blev analyseret for kvælstof, fosfor og calcium

På basis af registreringerne af gødnings- og urinmængde samt analyseresultaterne blev grisenes daglige aflejring, udskillelse og nettoabsorption (= den tilsyneladende fordøjede mængde) beregnet for fosfor og calcium.

3.3 RESULTATER OG DISKUSSION

Foderets kemiske sammensætning er vist i tabel 3.3. Fosforindholdet i blandingerne blev bestemt til 4,4 g/kg tørstof, hvoraf 2,9 g svarende til 66% var bundet i fytat. Det analyserede indhold er i overensstemmelse med de beregnede værdier (tabel 3.2); dog var calciumindholdet lidt lavere end beregnet.

Fytaseaktiviteten blev bestemt i de 6 forsøgsblandinger (Tabel 3.4). Resultaterne viser for det første, at der er forskel mellem de 2 laboratoriers niveau for fytase-aktivitet i foderblandingerne. Desuden fremgår, at begge laboratorier finder, at der er tilsat 800 FTU fytase/kg foder, hvilket er markant mindre end det tilstræbte. Disse resultater bekræfter andre iagttagelser af, at fytasebestemmelsen varierer mellem laboratorier, og at det kan være vanskeligt at genfinde den tilsatte mængde fytaseaktivitet i foderblandingerne. Se senere diskussion.

Tabel 3.3 Grundfoderets kemiske sammensætning/Chemical composition of the basic diet

Tørstof, %/Dry matter, %	88,8
<u>% af tørstof/Per cent of dry matter:</u>	
Råprotein/Crude protein	22,4
HCl-fedt/Fat	5,4
Træstof/Crude fibre	4,2
Aske/Crude ash	4,9
Fosfor/Phosphorus	0,44
Fytat-fosfor/Phytate phosphorus	0,29
Calcium/Calcium	0,39/0,59/0,78
<u>Pr kg foder/Per kg diet:</u>	
Calcium, g/Calcium, g	3,4 / 5,2 / 6,9
Fosfor, g/Phosphorus, g	3,9

Tabel 3.4 Fytaseaktivitet i foderblandingerne, FTU*)/kg/Phytase activity, FTU/kg diet

	Foderblandinger/Diets				Tilsat fytase/ Added phytase
	- Fytase/ - Phytase	n	+ Fytase/ + Phytase	n	
Fytase, FTU/kg foder/ Phytase, FTU/kg diet:					
SH	650	9	1450	9	800
Novo	300	3	1100	3	800

*) 1 FTU = den mængde enzym, der frigør 1 mmol orthofosfat pr. minut under følgende testbetingelser (pH 5,5, 37°C, 0.0061 M natriumfyat), (efter Engelen et al., 1994)/1 FTU = the amount of enzyme which releases 1 mmol ortho phosphate per minute under the following conditions (pH 5,5, 37°C, 0.0061 M sodium phosphate), (Engelen et al., 1994).

Grisene indgik i forsøget ved en vægt på 38,6 kg (SD = 1,9 kg), og ved forsøgets afslutning efter 12 dage vejede de 45,9 kg (SD = 2,5 kg). Den daglige tilvækst var ikke signifikant påvirket af forsøgsbehandlingen, men grisene på forsøgsbehandling 6 havde den højeste og grisene på behandling 3 den laveste tilvækst. I gennemsnit var tilvæksten 612 g/dag. Sundhedstilstanden var god hos alle grisene

Aflejrings- og udskillelsesmønstret for fosfor og calcium er angivet i tabel 3.5. Den statistiske opgørelse viste, at der ikke var vekselvirkningseffekt mellem calcium og tilsætning af Phytase Novo på nettoabsorptionen og den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor. For de egenskaber, hvor der ikke blev påvist vekselvirkninger, er hovedeffekterne samlet i tabel 3.6. Opgørelsen viste endvidere, at calciumdoseringen heller ikke havde indflydelse på de nævnte egenskaber. Derimod blev den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor forbedret fra 40 til 58%, hvorved nettoabsorptionen steg fra 2,18 til 3,17 g fosfor/dag, når foderet blev tilsat fytase (tabel 3.6). Resultaterne viser, at effekten af tilsætning af 1500 FTU Phytase Novo/kg (analysen viste 800 FTU/kg) til et foder kun indeholdende det

naturligt forekommende fosfor ikke var påvirket af foderets calciumindhold i doseringsintervallet 3,4-6,9 g calcium/kg foder. Derimod var aflejringen af fosfor klart afhængig af foderets calciumindhold (se senere).

Nettoabsorptionen og den tilsyneladende fordøjelighed af calcium var heller ikke påvirket af en vekselvirkning mellem tilsætning af fytase og calciumindhold i foderet. Derimod var der hovedeffekter af både calciumindhold og fytasetilskud som vist i tabel 3.6. Tabellen viser, at der var en forøgelse på 21% i nettoabsorptionen og fordøjeligheden af calcium, når foderet blev tilsat fytase. Ved at øge indholdet af calcium i foderet steg nettoabsorptionen fra 2,31 til 4,25 g calcium/dag, hvorimod fordøjeligheden af calcium faldt fra 48 til 43%.

Foregående tabel (tabel 3.5) viser, at nettoabsorptionen og dermed fordøjeligheden ikke var påvirket af vekselvirkningen mellem calcium og fytase. Til gengæld influerede denne vekselvirkning på, hvor meget calcium der aflejreredes, og hvor meget der udskiltes med urin. Dette skyldes, at der er et snævert samspil i omsætningen af calcium og fosfor, hvorfor størrelsen af calciumaflejringen er af-

Tabel 3.5 Effekt af Phytase Novo og calcium på absorption, aflejring og udskillelse af fosfor og calcium hos grise (39-46 kg)¹⁾/
Effect of Phytase Novo and calcium on absorption, retention and excretion of phosphorus and calcium in pigs (39-46 kg)

Forsøgsbehandling/Diet	1	2	3	4	5	6	Root MSE ²⁾	Ca*fyt	Ca	Fyt
Fosfor, g/dag/Phosphorus, g/day:										
Fortæret/Ingested	5,46	5,49	5,52	5,46	5,49	5,49				
<u>Udskilt/Excreted:</u>										
Gødning/Faeces	3,22 ^b	3,30 ^b	3,40 ^b	2,27 ^a	2,31 ^a	2,34 ^a	0,18	NS	NS	*** ³⁾
Urin/Urine	0,15 ^{bc}	0,05 ^{ac}	0,06 ^{ac}	0,87 ^d	0,17 ^b	0,03 ^a	0,09	***	***	***
Aflejret/Retained	2,09 ^a	2,14 ^{ab}	2,06 ^a	2,32 ^b	3,01 ^c	3,12 ^c	0,20	***	***	***
Absorb. (netto)/ Absorbed (net)	2,24 ^a	2,19 ^a	2,12 ^a	3,19 ^b	3,18 ^b	3,15 ^b	0,19	NS	NS	*** ³⁾
Tils. Fordøjelighed, %/ App. digest, %	41 ^a	40 ^a	38 ^a	58 ^b	58 ^b	57 ^b	3	NS	NS	*** ³⁾
Aflejret:fortæret, %/ Retained ingested, %	38 ^a	39 ^a	37 ^a	42 ^b	55 ^c	57 ^c	4	***	***	***
Calcium, g/dag/Calcium, g/day:										
Fortæret/Ingested	4,85	7,39	9,87	4,85	7,39	9,82				
<u>Udskilt/Excreted:</u>										
gødning/Ingested	2,82 ^b	4,20 ^d	5,95 ^f	2,25 ^a	3,52 ^c	5,24 ^e	0,30	NS	***	*** ³⁾
urin/Urine	0,05 ^a	0,72 ^c	1,32 ^d	0,04 ^a	0,09 ^a	0,44 ^b	0,27	***	***	***
Aflejret/Retained	1,98 ^a	2,47 ^b	2,60 ^b	2,56 ^b	3,78 ^c	4,14 ^c	0,45	**	***	***
Absorb. (netto)/ Absorbed (net)	2,03 ^a	3,19 ^c	3,92 ^d	2,60 ^b	3,87 ^d	4,58 ^e	0,32	NS	***	*** ³⁾
Tils. Fordøjelighed, %/ App. Digestibility, %	42 ^a	43 ^{ab}	40 ^a	54 ^c	52 ^c	47 ^b	4	NS	**	*** ³⁾
Aflejret:fortæret, %/ Retained:ingested, %	41 ^b	33 ^c	26 ^d	53 ^a	51 ^a	42 ^b	5	NS	***	*** ³⁾

1) ***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; NS: $p > 0,05$. 2) Root MSE fra modellen. 3) Hovedeffekter er vist i tabel 6.; a, b, c: Tal på samme linie med forskellige bogstaver er signifikant forskellige $p \leq 0,05$

Tabel 3.6 Hovedeffekten af Phytase Novo og calcium på absorption, fæcal ekskretion og udnyttelse af fosfor og calcium hos grise (39-46 kg)¹⁾/Main effects of Phytase Novo and calcium on absorption, faecal excretion and net retention in pigs

	Fytase/Phytase		Calcium,g/kg/ Calcium, g/kg			Root MSE ²⁾	Fytase/ Phytase	Ca/ Ca
	-	+	3,4	5,2	6,9			
Calcium/Calcium								
Fæcal eksk., g/dag/ Faecal excretion, g/day	4,32 ^a	3,67 ^b	2,54 ^A	3,86 ^B	5,60 ^C	0,30	***	***
Absorberet (netto), g/dag/ Absorbed (net),g/day	3,05 ^a	3,68 ^b	2,31 ^A	3,53 ^B	4,25 ^C	0,32	***	***
Tils. Fordøjelighed, %/ App. digestibility, %	42 ^a	51 ^b	48 ^A	48 ^A	43 ^B	4	***	**
Udnyttelse, %/ Retained, %	34 ^a	49 ^b	47 ^A	42 ^B	34 ^C	5	***	***
Fosfor/Phosphorus								
Fæcal eksk., g/dag/ Faecal excretion, g/day	3,31 ^a	2,31 ^b				0,18	***	NS
Absorberet (netto), g/dag/ Absorbed (net),g/day	2,18 ^a	3,17 ^b				0,19	***	NS
Tils. Fordøjelighed, %/ App. digestibility, %	40 ^a	58 ^b				3	***	NS
Fordøjet, g/FEs/ Digested, g/FEs	1,42 ^a	2,07 ^b				0,07	***	NS
Fordøjet, g/kg/ Digested, g/kg	1,54 ^a	2,24 ^b				0,13	***	NS

1) ***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; NS: $p > 0,05$

2) Root MSE fra modellen

a, b, c eller A, B, C: Tal på samme linie med forskellige bogstaver er signifikant forskellige $p \leq 0,05$

hængig af, hvor meget fosfor, der er til rådighed, og omvendt. Derfor er det nødvendigt at se på resultaterne for fosfor og calcium samlet.

Det er veldokumenteret, at reguleringen af calciumindholdet i kroppen primært sker på tarmniveau, hvorimod fosfor primært reguleres via ekskretionen med urin. Derfor er udskillelsen af calcium i urin normalt meget ringe (svarende til det endogene obligatoriske tab). For fosfor vil størrelsen af udskillelsen med urin være afhængig af, om grisen over- eller underforsynes med fosfor. Hvis fosforindtaget svarer til eller er mindre end grisens aflejningskapacitet, er fosforudskillelsen med urin meget lille (svarende til det obligatoriske endogene tab), hvorimod udskillelsen med urinen stiger i takt med, at grisen overforsynes med fosfor.

Resultaterne i tabel 3.5 viser for det første, at grise, der fik foder uden fytasetilskud, ikke fuldt ud udnyttede deres aflejningskapacitet for hverken calcium eller fosfor (forsøgsbehandling 1, 2 og 3). For de samme grise fremgår endvidere, at ved den laveste calciumtildeling er calcium begrænsende, hvorimod fosfor er begrænsende ved de 2 øvrige calciumdoseringer. For grise, der fik foder med fytasetilskud gælder, at når foderet indeholdt 3,4 g calcium/kg var calcium og ikke fosfor begrænsende for aflejringen af disse to mineraler. Dette ses af, at den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor er høj (58%), medens udnyttelsen af fosfor er lav (42%). Derimod tyder det på, at en calciumtildeling på 5,2 g/kg foder er tilstrækkelig til at sikre samme aflejring som i tidligere forsøg (f.eks. Poulsen, 1994). En stigning i calciumindhold

fra 5,2 til 6,9 g/kg foder gav i det aktuelle forsøg således heller ingen markant forøgelse i calciumaflejringen eller i fosforudnyttelsen.

Ved fytasetilsætning og et calciumindhold på 5,2 eller 6,9 g calcium/kg (forsøgsbehandling 5 og 6) steg fosforaflejringen signifikant til godt 3 g/dag, hvilket er på niveau med delforsøg 1. Det kan dog ikke afvises, at fosfortildelingen til grisene på forsøgsbehandling 5 og 6 har været den begrænsende faktor for maksimal aflejring af både calcium og fosfor, og at et calciumindhold på 5,2 g/kg foder således er for lidt til at understøtte en maksimal calcium- og dermed fosforaflejring. Det kan derfor i det aktuelle forsøg ikke endeligt konkluderes, at tilsætning af 1500 FTU Phytase Novo/kg foder, der medfører en forøgelse i indholdet af fordøjeligt fosfor fra 1,4 til 2,1 g/FEs (svarende til fra 1,6 til 2,3 g/kg foder) helt kan dække voksende grisens fosforbehov. Dog har tidligere forsøg dokumenteret, at 2,2 g ford. fosfor/FEs er nok til voksende slagtesvin (Poulsen, 1994; Nielsen, 1995).

3.4 DELKONKLUSION

Forsøget viste, at calciumindholdet i foderet (3,4; 5,2 eller 6,9 g/kg), ikke påvirkede effekten af fytase. Calciumtildelingen havde heller ingen indflydelse på fosfors fordøjelighed i blandede uden tilsat fytase. Den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor blev i forsøget hævet fra 40 til 58% svarende til en stigning i nettoabsorptionen på 1 g fosfor/dag (2.18 til 3.17 g fosfor /dag), når foderet blev tilsat 1500 FTU Phytase Novo/kg (800 FTU analyseret). Fosforaflejringen og dermed -udnyttelsen var generelt størst hos grisene, der fik foder tilsat fytase og havde et calciumindhold på 5,2 eller 6,9 g/kg.

4 Delforsøg 3

4.1 FORMÅL

Formålet med delforsøget var at undersøge effekten af tilsætning af henholdsvis 250 og 500 FTU fytase/kg foder på fordøjeligheden af fosfor i en ikke-varmebehandlet hvedebaseret foderblanding beregnet til smågrise.

4.2 MATERIALE OG METODER

Der blev gennemført et balanceforsøg med 8 kuld à 6 sogrise, som blev kuldvis fordelt på 6 forsøgshold: positiv kontrol, negativ kontrol, 250 FTU Natuphos/kg, 500 FTU Natuphos/kg, 250 FTU Phytase Novo/kg og 500 FTU Phytase Novo/kg (tabel 4.1).

Tabel 4.1 Forsøgsdesign/Experimental design

Hold/Diet	1	2	3	4	5	6
	Positiv kontrol	Negativ kontrol	Natuphos		Phytase Novo	
Tilsat fytase, FTU/kg/ Added phytase, FTU/kg	-	-	250	500	250	500
Antal grise/No. of pigs	8	8	8	8	8	8

Der blev anvendt to grundblandinger, én til den positive kontrol (6,5 g fosfor (total)/FEs) og én til den negative kontrol og fytaseholdene (3,0 g fosfor/FEs). Sammensætning og det beregnede indhold er vist i tabel 4.2

Grundblandingerne var sammensat, så de opfyldte normerne for alle næringsstoffer, på nær fosfor i den negative kontrol og fytaseholdene. Grundblandingen til hold 2-6 blev fremstillet som én portion, som derefter blev opdelt i 5 dele, hvoraf 4 blev tilsat de respek-

tive mængder af fytase (tabel 1). Calciumindholdet i alle blandingerne var planlagt til 6,0 g/FEs (= 6,7 g/kg foder).

Grisene blev ved en vægt på 36,2 kg (SD 2,2 kg) placeret i opsamlingsbure, hvor de blev fodret med de respektive blandinger (1200 g/dag). Efter 5 dages tilvænning blev der isat urinkatetre, hvorefter urin og gødning blev opsamlet separat i 7 dage og vejjet. Repræsentative prøver blev udtaget til analyse.

Tabel 4.2 Grundblandingerne procentvis sammensætning/

Composition of the two basic diets, %

	Hold 1/Diet 1	Hold 2-6/Diets 2-6
Byg/Barley	15,0	15,00
Hvede/Wheat	50,9	53,0
Sojaskrå/Soybean meal	22,2	21,7
Kartoffelprotein/Potato protein	5,0	5,0
Animalsk fedt/Animal fat	2,6	2,0
Lysin, 40%/Lysine, 40%	0,8	0,8
Methionine, 40%/Methionine, 40%	0,2	0,2
Kridt/Calcium carbonate	0,7	1,5
Monocalcium fosfat*/MCP	1,8	-
Salt/Sodium chloride	0,4	0,4
Vit./min. blanding/Vit./min. premix	0,4	0,4
<u>Beregnet indhold/Calculated content:</u>		
FEs/kg foder/FUp/kg diet	1,12	1,12
g ford. protein/g digest. Protein	160	160
g fosfor/g phosphorus	6,5	3,0
g calcium/g calcium	6,0	6,0
Pr. kg/Per kg:		
g fosfor/g phosphorus	7,3	3,4
g calcium/g calcium	6,7	6,7

* Bolifor MCP, Kemira

Foderet blev analyseret for tørstof, aske, kvælstof, HCl-fedt, træstof, fosfor, fytatbundet fosfor, calcium og fytaseaktivitet. Gødning blev analyseret for tørstof, aske, kvælstof, HCl-fedt, træstof, fosfor og calcium. Urin blev analyseret for kvælstof, fosfor og calcium.

På basis af registreringerne og analyseresultaterne blev grisenes daglige aflejring, udskillelse og nettoabsorption (= den tilsyneladen-

de fordøjede mængde) beregnet for fosfor og calcium.

Fytaseaktiviteten i foderblandingerne blev bestemt på tre laboratorier (BASF, Ludvigshafen; Novo Nordisk, Bagsværd; Statens Husdyrbrugsforsøg), som alle tog udgangspunkt i metoden beskrevet af Engelen et al., 1994.

Den statistiske analyse blev gennemført ved hjælp af standardprogrammer (SAS, 1989), og resultaterne blev analyseret efter følgende model:

$$Y = m + L + t + e,$$

hvor

- Y = den undersøgte egenskab
- m = mindste kvadraters gennemsnit
- L = effekt af kuld
- t = effekt af foderblanding
- e = den tilfældige restvariation, som antages at være uafhængig og N (O, (2).

Resultaterne er angivet som mindste kvadraters gennemsnit.

Det aktuelle forsøg er gennemført med de samme foderblandinger, der blev anvendt i et produktionsforsøg med smågrise. Resultaterne herfra er beskrevet af Jørgensen et al., 1995.

4.3 RESULTATER OG DISKUSSION

De to grundblandingers kemiske sammensætning er vist i tabel 4.3, hvoraf det fremgår, at indholdet af både calcium og fosfor er næsten i overensstemmelse med det planlagte (tabel 4.2).

Fytaseaktiviteten i de 6 foderblandinger blev bestemt på 3 laboratorier som vist i

Tabel 4.3 Grundfoderets kemiske sammensætning/Chemical composition of the basic diets

	Hold 1/Diet 1	Hold 2-6/Diets 2-6
Tørstof, %/Dry matter, %	88,1	88,0
<u>% af tørstof/Per cent of dry matter:</u>		
Råprotein/Crude protein	25,0	24,9
HCl-fedt/Fat	6,3	5,6
Træstof/Crude fibre	4,7	4,3
Aske/Crude ash	6,1	5,3
Fosfor/Phosphorus	0,90	0,42
Fytat-fosfor/Phytate-phosphorus	0,27	0,26
Calcium/Calcium	0,77	0,79
<u>Pr. kg foder/Per kg diet:</u>		
g fosfor/g phosphorus	7,9	3,7
g calcium/g calcium	6,8	7,0

vist i tabel 4.4. Resultaterne stemmer ikke overens, selv om der er visse tendenser. For det første er den naturligt forekommende fytaseaktivitet (hold 1 og 2) lavest hos Novo og højest hos SH med BASF nærmest som gennemsnit. For det andet ses, at når Natup-

hos tilsættes, finder alle 3 laboratorier næsten samme fytaseaktivitet, hvorimod der er større spredning, når Phytase Novo tilsættes. Både BASF og SH fandt en meget lavere aktivitet, hvorimod Novo fandt en aktivitet næsten på niveau med det planlagte. Årsagen hertil

kan være den forskel, der var i partikelstørrelse hos de to produkter, hvor Natuphos var pulverlignende, hvorimod Phytase Novo produceredes som granulat. Således er den prøvestørrelse, der beskrives af Engelen et al., 1994, måske ikke egnet til analyse af Phytase Novo. Derfor har Novo i sine analyser fordoblet prøvestørrelsen, hvilket kan være forklaringen på, at Novo finder en markant højere fytaseaktivitet i blanding 5 og 6.

Ovennævnte analysemæssige uoverensstemmelser viser, at bestemmelsen af fytaseaktivitet kræver flere studier til fastlæggelse af en ensartet procedure. Det bør dog også nævnes, at fytaseaktivitetsbestemmelse efter Engelen et al., 1994 først for nylig er indført ved SH. Resultaterne fra dette delforsøg vil på grund af de analysemæssige problemer primært blive baseret på de planlagte niveauer.

Tabel 4.4 Fytaseaktivitet, FTU/kg*. Resultater fra BASF, Novo og SH/Phytase activity, FTU*/kg. Results of BASF, Novo and DIAS

Hold/Diet	1	2	3	4	5	6
BASF (n=2)						
FTU/kg	385	400	690	900	475	668
Tilsat/ Added, FTU/kg	-	-	290	500	75	268
Novo (n=1)						
FTU/kg	336	327	549	785	515	760
Tilsat/ Added, FTU/kg	-	-	222	458	188	433
SH/DIAS (n=3)						
FTU/kg	547	507	721	925	610	646
Tilsat/ Added, FTU/kg	-	-	214	418	103	139

***1 FTU = den mængde enzym, der frigør 1mmol orthofosfat/min under følgende betingelser (pH 5,5, 37°C, 0,0061 M natriumfosfat)/1 FTU = the amount of enzyme which releases 1 mmol ortho phosphate per minute under the following conditions (pH 5,5, 37°C, 0.0061 M sodium phosphate).**

Alle 48 grise gennemførte forsøget, og ved forsøgets afslutning vejede de i gennemsnit 44,4 kg (SD 2,1 kg). Der var en klar tendens til, at grisene på hold 2-6 (negativ kontrol og fytaseholdene) havde en lavere tilvækst end grisene på hold 1 (positiv kontrol).

Nettoabsorption, aflejring og udskillelse af calcium og fosfor er vist i tabellerne 4.5 og 4.6. Det fremgår, at hold 1 (positiv kontrol) aflejrede omkring 3,6 g fosfor/dag og 4,5 g calcium/dag, hvorimod hold 2 (negativ kontrol)

aflejrede 2,9 g fosfor/dag og 3,8 g calcium/dag. Hold 3-6 (fyttasetilskud) aflejrede fra 3,15 til 3,34 g fosfor/dag, hvilket er mere end hold 2 (negativ kontrol) og som forventet mindre end hold 1 (positiv kontrol). Desuden aflejrede hold 3-6 (fyttasetilskud) mere calcium end hold 2 (negativ kontrol), hvorimod der ikke var signifikant forskel i calcium-aflejringen mellem holdene, der fik foder med fytasetilskud, og det positive kontrolhold.

Calciumaflejringen hos det positive kontrolhold og fytaseholdene er i overensstemmelse med tidligere forsøg, hvorimod den lave calciumretention hos det negative kontrolhold viser, at fosfor har været den begrænsende faktor for aflejringen af både calcium og fosfor hos disse grise. Ligeledes viser forøgelsen i aflejret fosfor (0,3 g/dag) hos hold 1 i forhold til hold 3-6 (fytasetilskud), at sidstnævnte grises fosforaflejringsskapacitet ikke blev tilgodeset i nogen af de hold, der fik foder tilsat fytase.

Fordøjelighedskoefficienten for fosfor var i kontrolholdene 58 (positiv kontrol) og 57% (negativ kontrol). Dette viser, at knap 60% af den fosfor, der findes i en ikke-varmebehandlet hvedebaseret foderblanding, kan fordøjes og dermed udnyttes af voksende grise. Når foderet blev tilsat fytase, steg fordøjeligheden af fosfor til henholdsvis 62, 66, 62 og 64% for hold 3 til 6.

Tilskud af 250 FTU fytase/kg medførte for begge produkter (Natuphos og Phytase Novo) en stigning i den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor på 5 procentenheder fra 57 til 62%, hvorimod tilsætning af 500 FTU fytase/kg forøgede fosfors fordøjelighed med 6 til 9 procentenheder fra 57% til 64% (Phytase Novo) og til 66% (Natuphos). Denne forskel er dog ikke signifikant. Derfor viser dette forsøg ingen forskel mellem de to fytaseprodukter.

Udskillelsen af fosfor med urinen var næsten 0 hos grisene på hold 2-6, hvilket viser, at disse grise ikke blev overforsynet med fosfor (tabel 4.5). Derimod udskilte grise på hold 1 43% af den absorberede fosfor med urinen, hvilket viser, at disse grise blev stærkt overfodret med fosfor. Dette støttes også af resultaterne for calcium (tabel 4.6).

Effekten af fytase på fosfors tilsyneladende fordøjelighed er summeret i tabel 4.7, hvor udregningerne på baggrund af de omtalte analyseproblemer er baseret på de planlagte tilsætninger. Tilsætning af fytase gav en forøgelse på 0,32-0,38 g fordøjeligt fosfor/500 FTU Natuphos og en forøgelse på 0,24-0,40 g fordøjeligt fosfor/500 FTU Phytase Novo. Samtidigt ses, at en fordobling af fytasetilsætningen ikke gav anledning til en fordobling i frigivelsen af fosfor.

Tabel 4.5 Absorption, udskillelse og aflejring af fosfor/Phosphorus absorption (net), retention and excretion

	1	2	3	4	5	6	Root MSE ¹⁾	Significance ²⁾
Fosfor, g/dag/Phosphorus, g/day								
Fortæret/Ingested	11.05 ^a	5.13 ^b	5.13 ^b	5.13 ^b	5.11 ^b	5.11 ^b		
Udskilt/Excreted:								
Gødning/Faeces	4.66 ^a	2.20 ^b	1.93 ^c	1.75 ^c	1.92 ^c	1.86 ^c	0.21	***
Urin/Urine	2.78 ^a	0.05 ^b	0.05 ^b	0.04 ^b	0.04 ^b	0.05 ^b	0.09	***
Ialt/Totally	7.43 ^a	2.25 ^b	1.98 ^c	1.79 ^c	1.96 ^c	1.91 ^c	0.22	***
Aflejret/Retained	3.62 ^a	2.88 ^b	3.15 ^c	3.34 ^c	3.15 ^c	3.20 ^c	0.22	***
Abs. (netto)/Abs. (net)	6.40 ^a	2.93 ^b	3.20 ^c	3.38 ^c	3.19 ^c	3.25 ^c	0.21	***
Tils. fordøjelighed, %/ App. digest., %	57.9 ^a	57.1 ^a	62.3 ^b	65.9 ^c	62.4 ^b	63.6 ^{bc}	3.0	***
Aflejret:fortæret, %/ Retained:ingested, %	32.7 ^a	56.1 ^b	61.5 ^c	65.2 ^d	61.6 ^c	62.6 ^{cd}	3.2	***

1) Root MSE fra modellen.

2) ***: $p \leq 0.001$; **: $p \leq 0.01$; NS: $p > 0.05$.

a,b,c: Resultater på samme linje med forskellige bogstaver er signifikant forskellige ($p \leq 0.05$)

Tabel 4.6 Absorption, udskillelse og aflejring af calcium/Calcium absorption (net), retention and excretion

	1	2	3	4	5	6	Root MSE ¹⁾	Significance ²⁾
Calcium, g/dag/ Calcium, g/day:								
Fortæret/Ingested	9.53	9.67	9.67	9.67	9.65	9.64		
Udskilt/Excreted:								
Gødning/Faeces	4.95 ^a	4.71 ^{ab}	4.41 ^b	4.43 ^b	4.41 ^b	4.38 ^b	0.45	NS
Urin/Urine	0.09 ^a	1.19 ^b	1.03 ^{bc}	0.82 ^{cd}	0.77 ^d	0.86 ^{cd}	0.24	***
Ialt/Totally	5.04 ^a	5.90 ^b	5.44 ^a	5.24 ^a	5.18 ^a	5.24 ^a	0.47	**
Aflejret/Retained	4.49 ^a	3.77 ^b	4.24 ^a	4.43 ^a	4.47 ^a	4.40 ^a	0.45	*
Abs. (netto)/Abs. (net)	4.58 ^a	4.96 ^{ab}	5.27 ^b	5.24 ^b	5.24 ^b	5.27 ^b	0.44	*
Tils. fordøjelighed, %/ App. digest., %	48.1 ^a	51.3 ^{ab}	54.5 ^b	54.2 ^b	54.3 ^b	54.6 ^b	4.7	*
Aflejret:fortæret, %/ Retained:ingested, %	47.1 ^a	39.0 ^b	43.8 ^a	45.8 ^a	46.3 ^a	45.7 ^a	4.8	*

1) Root MSE fra modellen.

2) ***: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,01$; NS: $p > 0,05$.

a,b,c: Resultater på samme linje med forskellige bogstaver er signifikant forskellige ($p \leq 0.05$)

Tabel 4.7 Nettoeffekt af fytasetilsætning på indholdet af fordøjeligt fosfor (P)/ Net effects of phytase addition on phosphorus (P) digestibility

	Neg. kontrol	Natuphos		Phytase Novo	
FTU/kg	-	250	500	250	500
g ford. P/kg/ g digest. P/kg	2,09	2,28	2,41	2,29	2,33
Effekt af fytase, g ford. P/kg/ Effect of phytase, g digest. P/kg	-	0,19	0,32	0,20	0,24
g ford. P/500 FTU/ g digest. P/500 FTU	-	0,38	0,32	0,40	0,24

Det eksperimentelt bestemte og beregnede indhold af fordøjeligt fosfor i de 6 blandinger er vist i tabel 4.8. Det fremgår, at grisene kan fordøje langt mere (46%) end beregnet af det naturligt forekommende fosfor i en hvedebaseret ikke-varmebehandlet foderblanding (hold 2). Til gengæld er der

overensstemmelse mellem det beregnede og det eksperimentelt bestemte indhold af fordøjeligt fosfor, når blandingen er tilsat store mængder foderfosfat. Disse resultater er i overensstemmelse med tidligere forsøg med bygbaseerede blandinger (Poulsen, 1994).

Tabel 4.8 Det forsøgsmæssigt bestemte og det beregnede indhold af fordøjeligt fosfor, P/ Experimentally determined and calculated content of phosphorus, P

	Pos. Kontrol	Neg. kontrol	Natuphos		Phytase Novo	
Fytase, FTU/kg/Phytase, FTU/kg	-	-	250	500	250	500
Bestemt/Determined:						
g ford. P/kg/ g digest. P/kg	4,6	2,1	2,3	2,4	2,3	2,3
g ford. P/FEs/ g digest. P/FUp	4,1	1,9	2,0	2,1	2,0	2,1
Beregnet ¹⁾ /Determined ¹⁾ :						
g ford. P/kg/ g digest. P/kg	4,6	1,5	-	-	-	-
g ford. P/FEs/ g digest. P/FUp	4,1	1,3	-	-	-	-

¹⁾ Beregnet vha. fordøjelighedskoefficienter fra cvb-reeks, 1990/Calculation based on digestibilities from cvb-reeks, 1990.

4.4 DELKONKLUSION

Forsøget viste, at tilsætning af mikrobiel fytase til en ikke-varmebehandlet hvedebaseret foderblanding øger den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor fra 57% op til 66%, svarende til 0,2-0,4 g fordøjeligt fosfor/500 FTU fytase pr. kg. Ved fytasetilsætning kunne indholdet af fordøjeligt fosfor øges til 2,0-2,1 g/FEs,

hvilket formentligt er i underkanten til at dække slagtesvins fosforbehov (Poulsen, 1994; Nielsen, 1995). Det beregnede indhold af fordøjeligt fosfor var markant mindre end det eksperimentelt bestemte indhold i blandingen bestående af hvede, byg og sojaskrå og uden fosfattilskud. Fordøjeligheden af calcium var ikke påvirket af fytasetilsætning.

5 Samlet diskussion

Fytase tilsættes foderet for at forøge nedbrydningen af fytatsalte, som findes i foderstoffer af vegetabilsk oprindelse. Spaltningsprocessen kan dog også katalyseres af fytase, som findes naturligt i planterne, i mikrofloraen i tarmen og udskilles af tarmcellerne. Pointillart et al., 1984, 1987 konkluderer dog, at aktivitetet af tarmfyttase er meget lille hos grise. Fosfater (f.eks. alkalisk fosfatase) udskilt i tarmen synes heller ikke at spille en rolle ved nedbrydningen af fytat (Pointillart et al., 1985). Derfor tillægges den intestinale fytase normalt ingen væsentlig betydning, hvorimod både plantefytase, hvis det findes i fodermidlerne, og tilsat mikrobiel fytase har stor betydning for omfanget af fytatnedbrydningen.

Fosfor absorberes kun i opløselig form som uorganiske fosfat-ioner (Breves & Schröder, 1991), og absorptionen sker normalt i den forreste del af tarmsystemet (duodenum, jejunum, og ileum). Der er kun påvist absorption fra tyktarmen hos grise, der har fået foder med et stort indhold af fosfor (Den Hartog et al., 1985). For at øge fosforudnyttelsen er det vigtigt, at fytat hydrolyseres, så fosfationer frigøres. Endvidere er det vigtigt, at nedbrydningen foregår i den forreste del af mavetarmkanalen, hvor fosfationer kan absorberes. Den mikrobielle nedbrydning, der måtte ske i tyktarmen, synes derfor at være uden væsentlig betydning for fosforabsorptionen.

Effekt af fytasetilsætning på fosfors fordøjelighed

Resultaterne fra de gennemførte forsøg er i overensstemmelse med andre forsøg med fytasetilsætning, som generelt medfører en forøgelse af den tilsyneladende fordøjelighed af fosfor. (Begreberne tilsyneladende fordøjelighed og fordøjelighed bruges i denne rapport som synonymymer). Der er dog forskel i

effektens størrelse, hvilket kan skyldes forskelle i fodersammensætning, fytasetype og fytasedosering. Fodersammensætningen har bl.a. betydning for, hvor meget plantefytase, der kan findes i en blanding. I forsøg med foder baseret på majs, hvori der ikke kan påvises fytaseaktivitet (Boisen, 1987) eller ringe aktivitet (Eeckhout & De Paepe, 1994), er fordøjeligheden af fosfor uden fytasetilsætning normalt meget lav, og tilsætning af fytase har øget fordøjeligheden af fosfor markant (Simons et al., 1990; Näsi, 1990; Jongbloed et al., 1992; Pallauf et al., 1992; Beers & Jongbloed, 1992); Cromwell, 1992; Cromwell et al., 1993; Lei et al., 1993a,b; Young et al., 1993). Havre har ligesom majs ingen eller ringe fytaseaktivitet (Boisen, 1987; Eeckhout & De Paepe, 1994), og forsøg med fytasetilsætning har ligeledes vist stor effekt på fordøjeligheden af fosfor (Bruce & Sundstøl, 1995).

Sammenligning til andre forsøgsresultater vanskeliggøres af, at foderblandingerne sammensætning varierer meget, ligesom mængden af tilsat fytase også varierer. I det aktuelle forsøg er anvendt byg (delforsøg 1 og 2) og hvede (delforsøg 3) som de dominerende kornarter. Khan & Cole, 1993 fandt, at fordøjeligheden af fosfor i en bygbaseret blanding steg fra 48 til 63%, og Näsi & Helander, 1994 fandt tilsvarende en stigning fra omkring 43 til 64%, når foderet (baseret på byg og sojaskrå) blev tilsat fytase. Dette er i overensstemmelse med delforsøg 1, som viste en stigning i fosfors fordøjelighed fra 45 til 63%, når foderet tilsattes fytase. I delforsøg 2 steg fosfors fordøjelighed fra omkring 40 til 58%, når foderet baseret på byg og sojaskrå blev tilsat fytase. Lantzsche et al., 1995 fandt en forøgelse fra 45 til omkring 70% ved fytasetilsætning. Disse forsøg er i god overensstemmelse med delforsøg 1 og 2, men er i modstrid med Näsi et al., 1995, som fandt, at fordøjeligheden af fosfor i en byg-

rapsskråblanding kun steg fra 32 til 42% ved fytasetilsætning. Sammenfattende medførte fytasetilsætning i de gennemførte forsøg med bygbaseerede blandinger (på nær Näsi et al., 1995) en forbedring af fosfors fordøjelighed på omkring 20 procentenheder.

I forsøg med hvedebaserede blandinger steg fordøjeligheden af fosfor fra 54 til 72% (Pallauf et al., 1994b; 45% hvede) og fra 48 til 71% (Pallauf et al., 1994a; 28% hvede), når der blev tilsat 700 FTU fytase/kg. I det aktuelle forsøg (delforsøg 3) steg fosfors fordøjelighed tilsvarende fra 57 til 65%, når det hvedebaserede foder (50%), der ikke var varmebehandlet/pelletteret, blev tilsat 500 FTU fytase/kg. Windisch et al., 1994 fandt dog kun en stigning fra 38 til 45% ved et hvedeindhold på 50%. Generelt forbedres fordøjeligheden af fosfor i de hvedebaserede blandinger ikke så meget som i bygbaseerede blandinger, men effektens størrelse ser ud til at afhænge af hvede-iblandingsprocenten, idet effekten af mikrobiel fytase på fosfors fordøjelighed falder med stigende indhold af hvede. Det skal dog påpeges, at i ingen af forsøgene var blandingerne varmebehandlet (Pallauf et al., 1994a,b; Windisch et al., 1994; det aktuelle forsøg (delforsøg 3)). Forskelligheder i udslagets størrelse kan derfor også bero på, at der er store forskelle i indholdet af naturlig fytaseaktivitet mellem forskellige sorter af hvede (Poulsen, foreløbige resultater).

Der kan ikke forventes samme procentvise forbedring af fordøjeligheden af fosfor ved tilsætning af fytase til forskellige foderblandinger, da både indholdet af fytat og naturligt fytase varierer mellem fodermidler (Pointillart, 1993) og som nævnt indenfor kornarter. Dünghoef et al., 1994 fandt, at tilsætning af fytase øgede fordøjeligheden af fosfor fra 18 til 56% i majs, fra 62 til 74% i hvede og fra 52 til 67% i tritcale, hvilket viser en langt mindre effekt på fodermidler med høj naturlig fytaseaktivitet (hvede, tritcale). Rodehutsord et al., 1996 fandt tilsvarende, at fordøjeligheden af fosfor steg fra 45 til 66% i byg og fra 31 til 73% i sojaskrå. Endvidere

fandtes en gennemsnitlig fordøjelighed på 69% i 4 undersøgte hvedesorter, og tilsætning af fytase til hvede resulterede ikke i yderligere forbedring af fordøjeligheden af fosfor (Rodehutsord et al., 1996). Disse forskelle i effekt af fytase på fordøjeligheden af fosfor på de rene fodermidler er formentlig medvirkende årsag til de variationer, der ses mellem de forskellige undersøgelseres resultater. Dette må også være årsag til, at der ses en større effekt af fytasetilsætning ved bygblandinger (en stigning på omkring 20 procentenheder) end ved hvede-blandinger (en stigning på omkring 8 procentenheder), hvor den naturlige fytaseaktivitet er meget højere. I alle tre delforsøg i det aktuelle forsøg oversteg fordøjeligheden af fosfor ikke 65%, hvilket er i overensstemmelse med de fleste andre forsøgsresultater. Fosfors fordøjelighed overstiger i de citerede undersøgelser ikke 70-75%.

Effekt af calcium på fytase

I delforsøg 2 blev undersøgt, om foderets indhold af calcium havde indflydelse på effekten af fytasetilsætning, men indenfor den undersøgte calciumdoseringsramme (3,4 - 6,9 g Ca/kg foder) var effekten af fytasetilsætning (800 FTU/kg (analyseret)) på fosfors fordøjelighed ikke påvirket. Lantzsche et al., 1995 fandt, at fordøjeligheden faldt fra 72 til 65%, når calciumindholdet steg fra 5 til 8 g/kg foder. Ved et indhold på 7 g Ca/kg var fordøjeligheden 69%, hvilket ikke var signifikant forskellig fra fordøjeligheden på 72% ved et indhold på 5 g Ca/kg (Lantzsche et al., 1995). Begge forsøg blev gennemført med bygdominerede blandinger og en ret høj fytasetilsætning. Mroz et al., 1994 fandt i et forsøg med foder baseret på tapioca og majs, at i doseringsintervallet 4 - 8 g havde calcium ingen signifikant effekt på fordøjeligheden af fosfor, selv om den ved en fytasetilsætning på 600 FTU/kg foder talmæssigt faldt fra 52 til 45%. I foderblandinger uden tilsætning af fytase lå fordøjeligheden på 35-37% og var heller ikke påvirket af calciumindholdet (Mroz et al., 1994), hvilket er i overensstemmelse med resultaterne i det aktuelle forsøg. Forsøgene viser generelt, at moderat calci-

umtildeling (5 - 8 g/kg) havde ingen eller kun ringe indflydelse på nedbrydningen af fytat i forbindelse med fytasetilsætning og dermed på fordøjeligheden af fosfor. Larsen & Sandström, 1993 fandt hos grise, der fik en fytasefri foderblanding, at calciumindholdet ingen effekt havde på den tilsyneladende absorption af fosfor. Dette skyldes, at fytatnedbrydningen i maven og tyndtarmen ikke var påvirket (Sandberg et al., 1993). Derimod faldt nedbrydningen af fytat i tyktarmen med stigende calciumindhold i foderet, men dette påvirkede dog ikke nettoabsorptionen af fosfor (Sandberg et al., 1993). Disse resultater bestyrker, at der ikke sker en væsentlig nettoabsorption af fosfor i tyktarmen (Breves & Schröder, 1991).

Fytaseenzymet har et bredt pH funktionsområde, men funktionsoptimum ligger for det mikrobielt fremstillede enzym omkring pH 5 til 6 (Engelen et al., 1994; Natuphos). Simons et al., 1990 fandt dog to maxima ved pH 2,5 og pH 5,5. Det naturligt forekommende fytase har et ret bredt funktionsinterval, der strækker sig fra pH 3 til pH 8, men fytaseaktiviteten er maximal ved pH 5 (Boisen, 1987). I maven ligger pH i det stærkt sure område, hvorefter pH værdien stiger ned gennem tyndtarmen. Efter tolvfingertarmen (duodenum) ligger pH på over 6, hvilket mindsker muligheden for fytase (både plante-fytase og mikrobiel fytase) til at hydrolysere fytat. I den nederste del af tyndtarmen (ileum) er målt pH-værdier på omkring 7,5 (Jongbloed et al., 1992; Sandberg et al., 1993). Jongbloed et al., 1992 fandt i en majs/tapiocablanding, at ved afslutningen af tyndtarmen var 60-74% af fytat hydrolyseret ved fytasetilsætning og kun 10% uden fytasetilsætning. Det må derfor forventes, at den største nedbrydning af fytatsalte/fytinsyre forårsaget af tilsat fytase finder sted i den forreste del af mavetarmsystemet, hvor også absorptionen af fosfor sker. Ved ileum er der således ikke fundet fytaseaktivitet (Jongbloed et al., 1992). Sandberg et al., 1993 fandt i en byg-hvedesojaskråblanding uden fytasetilsætning, at

66% af fytatet var blevet nedbrudt i maven og tyndtarmen.

Varmebehandling af foder

En af årsagerne til divergensen i effekten af fytasetilsætning kan tilskrives varmebehandling af foderet. Dels kan der ske inaktivering af det naturligt forekommende fytase og dels af det tilsatte fytase. Kortvarig opvarmning til 750 C havde begrænset negativ indflydelse på fytaseaktiviteten (Jongbloed et al., 1990), hvorimod opvarmning til 800C medførte en meget kraftig reduktion i fytaseaktivitet (Nielsen, 1992). Ved en temperatur på 1040 C var fytase fuldstændig inaktiveret (Jongbloed et al., 1990). Pelletering ved en temperatur på 650 C medførte en reduktion i fytaseaktivitet på 20-50% (Simons et al., 1990).

Det er derfor af stor betydning for vurderingen af fytasetilsætnings effekt, at der er redegjort for behandlingen af foderet. Det må forventes, at der vil være forskel i effekten af fytasetilsætning på en blanding indeholdende plantefytase, hvis den testes før eller efter varmebehandling. Den negative effekt af varmebehandling på fosfors fordøjelighed vil være størst ved en foderblanding med højt indhold af plantefytase og følgelig en ret høj fordøjelighed af fosfor, f.eks. en hvedebaseret blanding. I delforsøg 3, hvor det hvedebaserede foder ikke blev varmebehandlet, lå fordøjeligheden af fosfor på 57% og steg kun til 62-66% som følge af fytasetilsætningen, hvilket svarer til en stigning på 5-9 procentenheder. Var foderblandingen blevet varmebehandlet må det forventes, at effekten af fytasetilsætning havde været større.

Denne problemstilling vedrørende effekten af varmebehandling illustrerer fint den situation, der opstod i kølvandet på salmonellaproblemstillingen, hvor det blev krævet, at alt fabriksfremstillet foder bliver varmebehandlet, hvorimod gårdfremstillet foder ikke skal varmebehandles. Varmebehandlingen i henhold til salmonella-handlingsplanen må forventes at inaktivere det naturligt forekommende plantefytase med nedsat fordøje-

lighed af fytat til følge. Denne negative effekt er som nævnt størst, når foderet er baseret på fodermidler, der har høj naturlig fytaseaktivitet som f.eks. hvede. Ved vurderingen af værdien af fytasetilsætning bør der dels skelnes mellem fabriksfremstillet og hjemmeblandet foder og dels ses på sammensætning og forventet indhold af plantefytase.

Fosfor-ækvivalenter

Et af det store spørgsmål ved fytasetilsætning er tvivlen om, hvor meget uorganisk fosfor, der kan erstattes. Pallauf et al., 1992 fandt, at ved en majsbaseret blanding svarede 500 FTU til 1 g fosfor fra monocalciumfosfat (MCP). Hoppe et al., 1993 fandt, at 380 FTU fytase i en majsbaseret blanding svarede til 1 g fosfor fra MCP (baseret på fosforretention), hvilket ved en fordøjelighed på 80% (cvb, 1990) svarer til 0,8 g fordøjeligt fosfor. Forudsættes linearitet mellem dosis og respons kan det beregnes, at 500 FTU fytase svarer til omkring 1 g fordøjeligt fosfor. Hoppe & Schwarz, 1993 angiver, at ved en majs-sojaskråblanding frigør tilsætning af 500 FTU en fosfatmængde svarende til 0,8 g fordøjeligt fosfor. Mroz et al., 1993 fandt, at i en tapiocamajsblanding svarede 300 og 600 FTU fytase til 0,60 henholdsvis 0,91 g fordøjeligt fosfor. I det aktuelle forsøg (delforsøg 3) med en hvedebaseret blanding blev det fundet, at 500 FTU fytase gav fra 0,24 til 0,40 g fordøjeligt fosfor. Med baggrund i andre forsøg med hvedeblandinger er beregnet, at 500 FTU fytase/kg foder gav 0,28 g (Windisch et al., 1994; direkte bestemt på 500 FTU fytase/kg), 0,49 g (Pallauf et al., 1994b; omregnet fra 700 FTU fytase) og 0,7 g fordøjeligt fosfor (Pallauf et al., 1994a; omregnet fra 700 FTU fytase).

Pallauf et al., 1994a,b opnåede den største effekt i den blanding, der havde den laveste iblandingsprocent af hvede (28 mod 45%) - og

dermed den laveste plantefytaseaktivitet. Zerrahn, 1995 fandt med baggrund i den litteratur, der findes vedrørende fytases effekt på forbedringen af fosfors fordøjelighed, at denne steg mest ved en tilsætning på op til omkring 500 FTU/kg foder, hvorefter yderligere fytasetilsætning kun forbedrede fordøjeligheden minimalt. Derfor skal man ved beregning af, hvor meget fosfor, der frigøres ved tilsætning af en bestemt mængde fytase, f.eks. 500 FTU/kg, være meget forsigtig med at konkludere ud fra resultater baseret på andre niveauer af fytase-iblanding. Desuden har foderblandingerens indhold af plantefytaseaktivitet som omtalt stor indflydelse på, hvor stor effekten af fytasetilsætning er.

De fleste forsøg med bygblandinger er som delforsøg 1 og 2 udført med meget høje fytasedoseringer, hvilket vanskeliggør praktiske bud på, hvor meget fosfor, der frigøres ved tilsætning af f.eks. 500 FTU fytase/kg til en bygblending. Der savnes flere forsøg med blandinger sammensat på grundlag af hvede og byg til vurdering af fytases fosforækvivalenter, idet langt de fleste forsøg er gennemført med majsbaserede blandinger. Desuden kræves der mere dybdegående undersøgelser af samspillet mellem plantefytase og mikrobiel fytase samt effekten af andre faktorer som varmebehandling.

6 Konklusion

Det gennemførte forsøg, med henholdsvis byg- og hvedebaserede foderblandinger, giver grundlag for følgende konklusioner:

1. Tilsætning af fytase forbedrede fordøjeligheden af fosfor, hvilket nedsætter udledningen af ufordøjeligt fosfor.
2. I ikke-varmebehandlede foderblandinger var effekten af fytasetilsætning på fosfors fordøjelighed større ved byg- end hvedebaserede blandinger (omkring 20 procentenheder mod 8 procentenheder). Dette skyldes en højere naturlig fytaseaktivitet i hvede end i byg.
3. Fosfors fordøjelighed oversteg ikke 66%.
4. Tilsætning af 500 FTU fytase/kg foder medførte en forøgelse på 0,24 til 0,40 g fordøjeligt fosfor i en ikke-varmebehandlet hvedeblanding (svarende til gårdfremstillet foder)
5. Calciumindholdet i foderet - i doseringsintervallet 3,4 til 6,9 g Ca/kg - nedsatte ikke effekten af fytasetilsætning på fosfors fordøjelighed. Calcium samme doseringsinterval havde heller ingen effekt på fosfors fordøjelighed i foderblandinger uden fytasetilsætning.
6. Der kunne ikke i en ikke-varmebehandlet hvedeblanding påvises signifikant forskel mellem effekten af Natuphos og Phytase Novo på fosfors fordøjelighed.
7. Der sås tæt samspil mellem calcium og fosfor med hensyn til aflejring af begge mineraler.
8. Der var laboratoriemæssige forskelle i analysen for fytase, ligesom der var vanskeligheder med genfindning af den tilsatte fytaseaktivitet.
9. Der mangler forsøg med relevante danske foderblandinger til kvantificering af bl.a. den mængde fosfor, der frigøres ved tilsætning af relevante mængder af fytase.
10. Der savnes forsøg til belysning af mulighederne for at øge fordøjeligheden af fosfor udover 66% (vådfodring, støbsætning, syretilsætning etc.).

7 Anerkendelser

Novo Nordisk takkes for finansiell støtte til de tre delforsøg, ligesom BASF Danmark og Landsudvalget for Svin takkes for finansiell

støtte til delforsøg tre. Novo Nordisk og BASF Danmark takkes for at have leveret fytase til forsøgene.

8 Referencer

- Beers, S. & Jongbloed, A.W. 1992. Effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for piglets on their performance and apparent digestibility of phosphorus. *Anim. Prod.* 55, 425-430.
- Boisen, S. 1987. Fytinsyre og fytaseaktivitet i foderstoffer. Meddelelse nr. 675, Statens Husdyrbrugsforsøg, 4 pp.
- Bos, K.D. 1989. Degradation of phytate by wheat phytase. In: Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds. Eds.: J. Huisman, T.F.B. van der Poel, I.E. Liener. Pudoc Wageningen, 371-373.
- Breves, G. & Schröder, B. 1991. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. *Nutr. Res. Rev.* 4, 125-140.
- Bruce, J.A.M. & Sundstøl, F. 1995. The effect of microbial phytase in diets for pigs on apparent ileal and faecal digestibility, pH and flow of digesta measurements in growing pigs fed a high-fibre diet. *Can. J. Anim. Sci.* 75, 121-127.
- Centraal Veevoederbureau (cvb), 1990. Herziene tabel verteerbaar fosfor veevoedergrondstoffen voor varkens. cvb-reeks nr. 4, 13 pp.
- Cromwell, G.L. 1992. The biological availability of phosphorus in feedstuffs for pigs. *Pig News and Information* 13, 75N-78N.
- Cromwell, G.L., Stahly, T.S., Coffey, R.D., Monegue, H.J. & Randolph, J.H. 1993. Efficacy of phytase in improving the bioavailability of phosphorus in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs. *J. Anim. Sci.* 71, 1831-1840.
- Den Hartog, L.A., Huisman, J., Boer, H. & Schaijk, G.H.A. 1985. The effect of various carbohydrate sources on the digestibility of minerals in the small and large intestine of pigs. In: "Digestive physiology in the pig". Eds. A. Just, H. Jørgensen & J.A. Fernández. Beretning nr. 580, Statens Husdyrbrugsforsøg, 203-206.
- Düngelhoef, M., Rodehutsord, M., Spiekers, H. & Pfeffer, E. 1994. Effects of supplemental microbial phytase on availability of phosphorus contained in maize, wheat and triticale to pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 49, 1-10.
- Eeckhout, W. & De Paepe, M. 1994. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 47, 19-29.
- Engelen, A.J., Vanderheeft, F.C., Randsdorp, P.H.G. & Smith, E.L.C. 1994. Simple and rapid determination of phytase activity. *J. Aoac Inter.* 77, 760-764.
- Hoppe, P.P. & Schwarz, G. 1993. Experimental approaches to establish the phosphorus equivalency of *Aspergillus-niger*-phytase in pigs. In: Enzymes in animal nutrition. Proceedings of the 1st. Symposium, 13.-16. oktober, Kartause Ittingen, Switzerland, 187-191.
- Hoppe, P.P., Schöner, F.-J., Wiesche, H., Schwarz, G. & Safer, S. 1993. Phosphor-Äquivalenz von *Aspergillus-niger*-Phytase für Ferkel bei Fütterung einer Getreide-Soja-Diät. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 69, 225-234.
- Jongbloed, A.W., Mroz, Z. & Kemme, P.A. 1992. The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. *J. Anim. Sci.* 70, 1159-1168.
- Jongbloed, A.W. & Kemme, P.A. 1990. Effect of pelleting mixed feeds on phytase activity and the apparent absorbability of phosphorus and calcium in pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 28, 233-242.
- Jørgensen, L., Nielsen, N.O. & Zerrahn, J.-E. 1995. Tilsætning af mikrobiel fytase til hjemmeblandet hvedebaseret smågrisefoder. Meddelelse nr. 320, Den rullende afprøvning, Landsudvalget for Svin, 8 pp.

- Ketaren, P.P., Batterham, E.S. & Dettmann, E.B. 1993. Phosphorus studies in pigs. 3. Effect of phytase supplementation on the digestibility and availability of phosphorus in soya-bean meal for grower pigs. *Br. J. Nutr.* 70, 289-311.
- Khan, N. & Cole, D.J.A. 1993. The effect of dietary inclusions of phytase and yeast on apparent phosphorus digestibility in pigs. *British Society of Animal Production, Winter Meeting, 15-17 March, paper 63, 2 pp.*
- Lantzsich, H.-J., Wjst, S. & Drochner, W. 1995. The effect of dietary calcium on the efficacy of microbial phytase in rations for growing pigs. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 73, 19-26.
- Larsen, T. & Sandström, B. 1992. Effect of dietary calcium level on mineral and trace element utilization from a rapeseed diet fed to ileum-fistulated pigs. *Br. J. Nutr.*
- Lei, X.G., Ku, P.K., Miller, E.R. & Yokoyama, M.T. 1993a. Supplementing corn-soybean meal diets with microbial phytase linearly improves phytate phosphorus utilization by weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 71, 3359-3367.
- Lei, X.G., Ku, P.K., Miller, E.R. Yokoyama, M.T. & Ullrey, D.E. 1993b. Supplementing corn-soybean meal diets with microbial phytase maximizes phytate phosphorus utilization by weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 71, 3368-3375.
- Mroz, Z., Jongbloed, A.W. & Kemme, P.A. 1994. The influence of graded calcium supply on microbial phytase efficacy in starter diets for pigs. 45th Ann. Mtg. EAAP, Edinburgh, UK, 28 pp.
- Mroz, Z., Jongbloed, A.W., Kemme, P.A. & Geerse, K. 1993. Digestibility and urinary losses of calcium and phosphorus in pigs fed a diet with suboptimal levels of both elements and graded doses of microbial phytase (Natuphos). In: *Enzymes in animal nutrition. Proceedings of the 1st Symposium, 13.-16. october, Kartause Ittingen, Switzerland, 217-221.*
- Näsi, M. 1990. Microbial phytase supplementation for improving availability of plant phosphorus in the diet of the growing pigs. *J. Agric. Sci. Finl.* 62, 435-443.
- Näsi, M. & Helander, E. 1994. Effects of microbial phytase supplementation and soaking of barley-soybean meal on availability of plant phosphorus for growing pigs. *Acta Agric. Scand., Sect. A., Animal Sci.* 44, 79-86.
- Näsi, J.M., Helander, E.H. and Partanen, K.H. 1995. Availability for growing pigs of minerals and protein of high phytate barley-rapeseed meal diet treated with *Aspergillus niger* phytase or soaked with whey. *Anim. Feed Sci. Technol.* 56, 83-98.
- Nielsen, N.O. 1992. Fytaseaktivitet i fabriksfremstillet foder. Meddelse nr. 240, Den rullende afprøvning, Landsudvalget for Svin, 8 pp.
- Nielsen, N.O. 1994. Nedsat fosforindhold i slagte-svinefoder. Meddelelse nr. 299, Den rullende afprøvning, Landsudvalget for Svin, 8 pp.
- Pallauf, J., Höhler, D., Rimbach, G. & Neusser, H. 1992. Einfluss einer Zulage an mikrobieller Phytase zu einer Mais-Soja-Diät auf die scheinbare Absorption von Phosphor und Calcium beim Ferkeln. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 67, 30-40.
- Pallauf, J. Rimbach, G., Pippig, S., Schindler, B., Höhler, D. & Most, E. 1994a. Dietary effect of phytogenic phytase to a diet based on field beans, wheat, peas and barley on the utilization of phosphorus, calcium, magnesium, zinc and protein in piglets. *Z. Ernährungswiss.* 33, 128-135.
- Pallauf, J., Rimbach, G., Pippig, S., Schindler, B. & Most, E. 1994b. Effect of phytase supplementation to a phytate-rich diet based on wheat, barley and soya on the bioavailability of dietary phosphorus, calcium, magnesium, zinc and protein in piglets. *Agric. Res.* 47, 39-48.
- Pointillart, A., Fontaine, N. & Thomasset, M. 1984. Phytate phosphorus utilization and intestinal phosphatases in pigs fed low phosphorus: wheat or corn diets. *Nutr. Rep. Inter.* 29, 473-483.
- Pointillart, A., Fontaine, N., Thomasset, M. & Jay, M.E. 1985. Phosphorus utilization, intestinal phosphatases and hormonal control of calcium metabolism in pigs fed phytic phosphorus: soya-bean or rapeseed diets. *Nutr. Rep. Inter.* 32, 155-167.

- Pointillart, A., Fourdin, A. & Fontaine, N. 1987. Importance of cereal phytase activity for phytate phosphorus utilization by growing pigs fed diets containing triticale or corn. *J. Nutr.*, 117, 907-913.
- Pointillart, A., Fourdin, A., Bourdeau, A. & Thomasset, M. 1989. Phosphorus utilization and hormonal control of calcium metabolism in pigs fed phytic phosphorus diets containing normal or high calcium levels. *Nutr. Rep. Inter.* 40, 517-527.
- Pointillart, A. 1993. Importance of phytates and cereal phytases in the feeding of pigs. In: *Enzymes in animal nutrition. Proceedings of the 1st Symposium, 13.-16. oktober, Kartause Ittingen, Switzerland, 192-198.*
- Poulsen, H.D. 1994. Reduceret fosfortildeling til slagtesvin. Effekt på produktion og fosforudnyttelse. Forskningsrapport nr. 28, Statens Husdyrbrugsforsøg, 29 pp.
- Rodehutsord, M., Faust, M. & Lorenz, H. 1996. Digestibility of phosphorus contained in soybean meal, barley, and different varieties of wheat, without or with supplemental phytase fed to pigs and additivity in a wheat-soybean-meal diet. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 75, 40-48.
- Sandberg, A.-S., Larsen, T. & Sandström. 1993. High dietary calcium level decreases colonic phytate degradation in pigs fed a rapeseed diet. *J. Nutr.* 123, 559-566.
- SAS Institute Inc. 1989. *SAS/STAT User's Guide. Version 6, Fourth Edition. Volume 2.* Cary, NC: SAS Inst. Inc., 846 pp.
- Simons, P.C.M., Versteegh, H.A.J., Jongbloed, A.W., Kemme, P.A., Slump, P., Bos, K.D., Wolters, M.G.E., Beudeker, R.F. & Verschoor, G.J. 1990. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Br. J. Nutr.* 64, 525-540.
- Windisch, W., Kirchgessner, M. & Roth, F.X. 1994. Effekt eines Zusatzes mikrobieller Phytase zu einer Weizen-Gerste-Soja-Diät auf zootechnische Leistungen und scheinbare Verdaulichkeiten von Phosphor, Calcium und Magnesium bei abgestufter P-versorgung von Ferkeln. *Agribiol. Res.* 47, 90-99.
- Young, L.G., Leunissen, M. & Atkinson, J.L. 1993. Addition of microbial phytase to diets of young pigs. *J. Anim. Sci.* 71, 2147-2150.
- Zerrahn, J.-E. 1995. Tilsætning af mikrobiel fytase til smågrisefoder - Effekten på fosforudnyttelse og produktion. M.Sc. Speciale, Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, Frederiksberg, 92 pp.

50,- kr.