

LAV TEMPERATUR (12 °C) I VÅDFODER MINIMERER FERMENTERINGSTAB AF AMINOSYRER

Else Vils, Nuria Canibe og Helle Mølgård Sommer

SEGES Svineproduktion, Den rullende Afprøvning

STØTTET AF

Svineafgiftsfonden

Hovedkonklusion

Lav temperatur (12 °C) i vådfoderrørene reducerer fermenteringstab af frit lysin og treonin. Tilsætning af 2 ‰ myresyre hjælper til at reducere vækst af enterobakterier ved 12 °C og fermenteringstab ved 20 °C.

Sammendrag

Ved lav temperatur er der næsten ikke tab af aminosyrer, og tilsætning af myresyre hjælper derfor primært på risiko for vækst af enterobakterier. Ved høj temperatur minimerer tilsætning af myresyre tabet af frit lysin og treonin, men er ikke nødvendigt for at hæmme enterobakterier. Både ved lav og høj temperatur er der derfor fordele ved at tilsætte myresyre, men det skal opvejes mod den øgede foderpris.

Et laboratorieforsøg er gennemført med det formål at undersøge fermenteringstab af frie aminosyrer (lysin, methionin og treonin) samt vådfoderkvalitet ved fermenteringstemperaturer på hhv. 12 °C og 20 °C, samt hhv. med og uden tilsætning af 2 ‰ myresyre. Temperaturerne 12 °C og 20 °C er valgt ud fra temperaturmålinger af vådfoder vinter- og sommer.

Fermentering ved lav temperatur (12 °C) og/eller tilsætning af 2 ‰ myresyre reducerede fermenteringstab af frit lysin og treonin i forhold til fermentering ved 20 °C uden syretilsætning. Fermentering ved 20 °C uden syretilsætning medførte et fermenteringstab af frit lysin på op til 86 % målt i otte timer. Tabet af frit lysin forløb hurtigere ved 20 °C end ved 12 °C. Mængden af det biogene amin cadaverin, som dannes ud fra lysin, steg tilsvarende tabet af frit lysin. Fermenteringstab af frit methionin var lavt ved begge fermenteringstemperaturer, uanset tilsætning af myresyre.

Fermenteringstemperaturen havde stor betydning for fermenteringsforløbet. Dannelsen af mælkesyre var lav (25 mmol pr. kg otte timer efter foderskift) ved 12 °C. Fermentering ved 20 °C dannede fire-fem

gange mere mælkesyre og ca. samme mængde eddikesyre som ved 12 °C. Syredannelsen ved 20 °C medførte det anbefalede pH (pH 4,5-5), hvilket ikke skete ved 12 °C.

Tilsætning af 2 ‰ myresyre havde især betydning ved at sænke pH lige efter foderskift. Nogle timer efter foderskift og fermentering ved samme fermenteringstemperatur sås ingen forskel i pH, uanset om myresyre var tilsat eller ej. Myresyre har altså en korttidseffekt i forhold til at sænke pH. Derudover hæmmede myresyre opformeringen af mælkesyrebakterierne men ikke af gær. Fermentering ved 20 °C og tilsætning af 2 ‰ myresyre reducerede mælkesyredannelsen til ca. 1/3 i forhold til uden tilsætning af 2 ‰ myresyre.

Fermentering ved 12 °C var ikke tilstrækkelig til at reducere vækst af enterobakterier, hvorimod fermentering ved 20 °C reducerede enterobakterier. Kontaminering med enterobakterier betyder, at der er grobund for skadelige bakterier, som f.eks. E. coli og salmonella. Til gengæld var alle analyser for skimmel og *Cl. perfringens* under detektionsgrænsen. Tilsætning af 2 ‰ myresyre medvirkede til at reducere enterobakterier.

Forklaring på ordet foderskift, som anvendes i meddelelsen: ved foderskift i laboratorieforsøget udskiftes 67 % af vådfoderet med frisk foder og vand og svarer derved til opblanding + recirkulering i vådfodringsanlæg. Målinger på foder efter foderskift svarer derved til det foder, der står i rørstrengene mellem fodringerne.

Baggrund

I vådfoderbesætninger med foderrest i rørene (rørrest) er der to ønsker til restmængden i rørene:

1. At opnå en fermentering, der medfører konservering for at opretholde en god foderhygiejne.
2. At minimere aminosyretab ved fermentering.

Konservering af restmængden sker via den spontane fermenteringsproces i rørstrengene, som sænker pH ved dannelse af bl.a. mælkesyre. Mange besætninger anvender tilsætning af organiske syrer til foderet for at sikre en god foderhygiejne og minimere risiko for salmonella hos grisene.

Vejledningerne anbefaler at kompensere for aminosyretabet i foderoptimeringen, afhængigt af restmængde-% og syretilsætning. Tab af aminosyrer ved fermentering samt myresyres og benzoesyres effekt på fermenteringstab og vådfoderkvalitet er undersøgt i laboratorieforsøg ved 20 °C [1-3], og vejledninger er udarbejdet hertil [4,5].

I tidligere laboratorieforsøg vedr. fermenteringstab af aminosyrer er der anvendt en metode med foderskift med 50 % restmængde og fermentering ved 20 °C. Derved sikres et godt fermenteringsforløb, hvor pH typisk er nede omkring 4,5 ca. 48 timer efter opblanding af vand og frisk foder [6]. I praksis ligger temperaturen i det udfodrede vådfoder ofte noget lavere. I en forsøgsbesætning, hvor temperaturen blev målt løbende over tre år, var temperaturen i vintermånederne 13-18 °C og i sommermånederne 17-22 °C. I et laboratorieforsøg, hvor vådfoder blev indsamlet i vintermånederne i otte besætninger og anvendt som podedkultur, var temperaturen målt ved prøveudtagning i gns. 12 °C varierende fra 9-17 °C [2]. Tallene viser, at temperaturen i praksis varierer fra 9-22 °C og i perioder ligger væsentligt under 20 °C, som fermenteringsforsøgene er udført med.

Temperaturen har stor betydning for fermenteringsprocessen og konserveringen af restmængden. I et forsøg med fermentering ved 15 °C kontra 25 °C og opblanding hver ottende time stabiliserede pH sig ved 25 °C på 4,3-4,8 efter 48 timer, mens det ved 15 °C begyndte at stabilisere sig på pH 4,7-5,3 efter 60 timer [6].

I et andet forsøg med fermentering ved 10 °C, 20 °C og 38 °C lå pH stabilt på ca. 6 ved 10 °C de første 72 timer. Ved 20 °C faldt pH fra 6 til godt 4,5 ved 48 timer, og ved 38 °C faldt pH fra 6 til ca. 4,3 ved 24 timer. Ved alle tre temperaturer steg mælkesyrebakterier fra log 2 til log 8-9 (dvs. fra ca. 100 til 100.000.000-1.000.000.000 bakterier pr. gram vådfoder) men med forskellig hastighed: ved 10 °C efter 72 timer, ved 20 °C og 38 °C efter 24 timer. Der var altså sket en opformering af mælkesyrebakterier ved alle tre temperaturer men ingen sænkning af pH og dermed heller ingen fermentering [7].

I et forsøg med fermentering af majs toppede indholdet af mælkesyre temperaturafhængigt efter ca. en uge ved 20 °C, ca. to uger ved 12 °C og ca. fire uger ved 5 °C. Koncentrationen af mælkesyre stabiliserede sig ved 50-60 mM ved både 5 °C og 12 °C, mens den var oppe på 60-100 mM ved 20 °C [8].

Fermentering forbruger aminosyrer, og tab af frit lysin kædes bl.a. sammen med opformering af coliforme bakterier, som kan decarboxylere frit lysin under dannelse af cadaverin. Et forsøg med fermentering ved 20 °C og 35 °C viste både en væsentlig hurtigere opformering af colibakterier og en hurtigere nedbrydning af frit lysin ved 35 °C end ved 20 °C [9]. Dette tyder på, at stigende temperatur øger nedbrydningen af frit lysin.

Tilsætning af myresyre eller benzoesyre hæmmer fermenteringsprocessen og virker konserverende [2,3]. Det vides imidlertid ikke, om de lavere fermenteringstemperaturer i praksis beskytter mod fermenteringstab af frie aminosyrer, eller hvorvidt effekten af syretilsætning afhænger af temperaturen.

Forsøgets formål er at undersøge fermenteringstab af frie aminosyrer samt vådfoderkvalitet ved fermenteringstemperaturer på 12 °C og 20 °C svarende til intervallet i praksis samt at undersøge effekten af tilsætning af 2 ‰ myresyre ved to temperaturer.

Materialer og metoder

Forsøget blev gennemført som et laboratorieforsøg på Aarhus Universitet i Foulum.

Laboratorieforsøget omfattede fire grupper og 12 gentagelser pr. gruppe. Forsøgsdesignet fremgår af Tabel 1.

Tabel 1. Forsøgsdesign.

Gruppe	1	2	3	4
Temperatur	12 °C	12 °C	20 °C	20 °C
Myresyre	Ingen	2 ‰	Ingen	2 ‰

Podokultur til opstart af fermentering

Som podokultur til laboratorieforsøget blev der anvendt vådfoder fra fire slagtesvinebesætninger, som anvendte hjemmeblandet foder udfodret af vådfodringsanlæg med rørrest og recirkulering. Der var ikke anvendt valle eller syre i vådfoderet i minimum fire uger, inden prøverne blev udtaget. Dette skulle sikre, at mikroorganismene i vådfoderet til laboratorieforsøget var naturligt forekommende under praktiske produktionsforhold, og at fermenteringen ikke på forhånd var hæmmet af syre i foderet.

Vådfoderprøverne til podokultur blev udtaget, efter at foderet var recirkuleret i rørstrengen. Desuden blev der udtaget en prøve til analyse for mikrobiologi og flygtige frie fedtsyrer (VFA). Temperatur og

pH blev målt i forbindelse med prøveudtagning (Appendiks 1, Tabel 1.1). Prøverne blev leveret til Foulum samme formiddag, som de var udtaget. Fodersammensætningen i hver besætning fremgår af Appendiks 1, Tabel 1.1.

Tørfoder til laborieforsøget

Til forsøget blev én melfoderblanding produceret på foderfabrikken på Aarhus Universitet, Foulum. Fodersammensætningen fremgår af Appendiks 2, Tabel 2.1. Kornet var formalet svarende til mindst 60 % under 1 mm. Der blev taget udgangspunkt i en slagtesvineblanding baseret på korn og sojaskrå, men foderet blev tilsat aminosyrerne: lysin, methionin og treonin med ca. 5 g pr. kg tørfoder for at kunne måle et eventuelt tab af syntetiske aminosyrer ved fermentering.

Gennemførelse af laborieforsøg

Fermenteringerne blev gennemført i fire runder, og podekultur fra én af de fire besætninger blev anvendt hver gang. Tre fermenteringsbeholdere af 1 liter pr. runde pr. gruppe (i alt 12 fermenteringsbeholdere pr. runde (seks ved 12 °C og seks ved 20 °C)) blev anvendt. Fermenteringsbeholderne blev placeret i varmeskab ved konstant temperatur og med omrøring (Foto 1).



Foto 1. Fermenteringsbeholdere anvendt i laborieforsøget (Foto: Nuria Canibe).

Fermenteringerne blev opstartet samme dag (dag 1), som vådfoderet var udtaget fra besætningerne. Ved opstart af fermenteringerne blev 50 % vådfoder fra besætningerne og 50 % frisk vådfoder anvendt som podekultur. I de efterfølgende seks dage (dag 2-7) blev 67 % af foderet i hver fermenteringsbeholder udskiftet med frisk foder og vand en-to gange dagligt (Tabel 2).

Under hele forsøget var temperaturen 12 °C i gruppe 1 og 2 og 20 °C i gruppe 3 og 4.

Tabel 2. Tidspunkter for udskiftning af 67 % af vådfoderet med frisk foder og vand.

Dag 1	Dag 2	Dag 3	Dag 4	Dag 5	Dag 6	Dag 7
Torsdag	Fredag	Lørdag	Søndag	Mandag	Tirsdag	Onsdag
Kl. 12 (start)	Kl. 8:30 og 14:30	Kl. 8:30	Kl. 8:30	Kl. 8:30 og 14:30	Kl. 8:30 og 14:30	Kl. 8

Gennemførelsen af forsøget skulle efterligne praksis med restmængde på 33 %. Prøverne blev udtaget efter dag 7, hvor fermenteringsforløbet forventes at være stabiliseret.

Prøveudtagning og analyser

Tørfoderblanding

Repræsentative prøver blev udtaget under produktionen af melfoder. 12 prøver blev sendt til Eurofins til analyse af tørstof, råprotein samt totale og frie aminosyrer; lysin, methionin, og treonin. Fire af prøverne blev sendt til analyse inden forsøgets start for at sikre, at indholdet af aminosyrerne svarede til det forventede indhold. De øvrige otte prøver blev opbevaret på køl og sendt til analyse sammen med vådfoderprøverne efter hver runde for at imødegå, at eventuelle udsving i analysesikkerheden skulle få indflydelse på resultaterne i forsøget (Appendiks 2, Tabel 2.2).

Vådfoder fra besætningerne

Vådfoderprøverne fra besætningerne blev analyseret for indhold af mikroorganismer og organiske syrer (Appendiks 1, Tabel 1.2).

Fermenteringsbeholderne

pH blev målt i vådfoderet ved start af laboratorieforsøget samt lige før og efter hvert foderskift. På dag 7 blev 67 % af foderet udskiftet om morgenen før prøveudtagning.

Prøverne af fermenteringsbeholderne blev udtaget repræsentativt. Der blev målt pH, hvorefter prøverne, der skulle til analyse hos Eurofins, fik tilsat 4 ‰ myresyre for at stoppe fermenteringen.

Prøverne blev nedfrosset og sendt i flamingokasser til analyse hos Eurofins (Tabel 3).

Tabel 3. Oversigt over prøveudtagninger fra fermenteringsbeholderne og analyser.

Dag	Kl.	Timer fra sidste opblanding	Analyser
7	8.00	0	Eurofins ¹ + mikroplus ² + pH + temp
7	10.00	2	pH
7	12.00	4	Mikroplus ² + pH + temp
7	14.00	6	pH
7	16.00	8	Eurofins ¹ + mikroplus ² + pH + temp

¹ Eurofins: tørstof, råprotein og totale aminosyrer: lysin, methionin, cystin, treonin (i alt 96 prøver).

² Mikroplus: mikrobiologi, organiske syrer, biogene aminer, frie amino syrer, ethanol (i alt 144 prøver).

Beregning af tab af frie aminosyrer

Tabet af frie aminosyrer er beregnet ud fra analyseret indhold i tørfoder og analyseret indhold af totale aminosyrer (proteinbundet + frie) i både tørfoder og vådfoder. Det analyserede indhold af hver aminosyre (total aminosyre) er angivet i % af råprotein. Ved at beregne tabet ud fra andel af protein (analyseret som N x 6,25, som ikke tapes, selv om aminosyrer nedbrydes) undgår man, at tørstofftab påvirker resultatet.

Beregning af tab af syntetisk lysin:

Tab af totalt lysin i vådfoder efter otte timer, %:

$$\left(\frac{\text{Totalt lysin i \% af råprotein i melfoder} \div \text{totalt lysin i \% af råprotein i vådfoder efter otte timer}}{\text{Totalt lysin i \% af råprotein i melfoder}} \right) \times 100$$

Tab af frit lysin i vådfoder efter otte timer, %:

$$\text{Tab af totalt lysin i vådfoder efter otte timer, \%} \times 100 / \text{Frit lysin i \% af totalt lysin i melfoder}$$

Hvis frit (syntetisk) lysin f.eks. udgør 40 % af totalt lysin i melfoder, og der samtidig er et tab på 40 % af totalt lysin efter fermentering, er der beregnet et tab på 100 % af tilsat frit (syntetisk) lysin.

Statistik

Data på lysin, methionin og treonin blev analyseret som variansanalyser vha. Proc Mixed i SAS. De forklarende variable, der indgik i modellerne, var *Gruppe*, *Tid*, *Runde* samt vekselvirkningen mellem *Gruppe* og *Tid*. *Runde* blev modelleret som tilfældig effekt, *Gruppe* som en kategorisk, og *Tid* og *Gruppe***Tid* blev modelleret som kontinuerte variable. Data blev således analyseret som en lineær regression, hvor *Tid* og *Tid***Gruppe* udgjorde hældningerne på linjerne fra *Tid*=0 til *Tid*=8.

For de signifikante variable i modellerne blev der optegnet LSmeans værdier med tilhørende 95 % konfidensintervaller. Ved afgørelsen af, om to forskellige niveauer inden for samme variabel var signifikant forskellige, blev der udført en 'multiple comparison'-test med en Bonferroni-korrektion, idet aflæsning af overlappende/ikke-overlappende konfidensintervaller på LSmeans grafen ikke er tilstrækkelig til at afgøre, om niveauerne er signifikant forskellige fra hinanden.

Resultater og diskussion

Vådfoder anvendt som podekultur

Prøveudtagning af podekulturer i fire slagtesvinebesætninger foregik i perioden oktober 2019 til januar 2020. pH i vådfoder ved udfodring var 4,8-5,8 og i rørresten (lige før recirkulering) 4,6-5,2. Temperaturen i vådfoder ved udfodring var 11-14,5 °C og i rørresten før morgenfodring 11-17 °C. De målte temperaturer understreger, at temperaturerne i vådfoder i praksis kan ligge væsentligt lavere end de 20 °C.

Tab af frit lysin

En lav temperatur (12 °C) og/eller tilsætning af 2 ‰ myresyre reducerede fermenteringstabet af frit lysin i forhold til 20 °C uden tilsætning af myresyre. Fermenteringstabet af frit lysin i gruppe 3 (20 °C uden syre, uanset til hvilken tid) var statistisk sikkert højere end i de andre grupper ($p < 0,0001$). Fermenteringstabet af lysin i gruppe 1, 2 og 4 var ikke forskellige fra hinanden (Tabel 4).

Tabel 4. Tab af frit lysin. Statistisk 'multiple comparison'-test af forskelle mellem grupper i laboratorieforsøget. Fermenteringstab målt dag 7 efter opstart af forsøget til tid 0. Samme resultat ses for tid = otte timer.

Gruppe	Mod gruppe	Tab af lysin både for T0 og T8
		P-Værdi (Bonferroni-korrigeret)
1 (12 °C, ingen myresyre)	2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	1,0000
1 (12 °C, ingen myresyre)	3 (20 °C, ingen myresyre)	<0,0001
1 (12 °C, ingen myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	1,0000
2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	3 (20 °C, ingen myresyre)	<,0001
2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	1,0000
3 (20 °C, ingen myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	<,0001

Fermenteringstabet af frit lysin forløb hurtigere ved 20 °C end ved 12 °C. Dette er testet statistisk ved at teste hældningerne på linjerne mellem tabet fra 0-8 timer som udtryk for den gennemsnitlige hastighed af fermenteringstabet. Hældningen i gruppe 3 var signifikant forskellig fra hældningerne i gruppe 1 og 2 ($p < 0,0001$) men lige nøjagtigt ikke fra hældningerne i gruppe 4 ($p = 0,07$). Hældningerne i hhv. gruppe 1 og 2 samt 3 og 4 var indbyrdes ikke forskellige fra hinanden (Figur 2 og Tabel 5).

Tabel 5. Tab af frit lysin. Statistisk test af forskelle mellem gruppernes hældninger.

Gruppe	Mod gruppe	Tab af lysin
		P-Værdi (Bonferroni-korrigeret)
1 (12 °C, ingen myresyre)	2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	0,949
1 (12 °C, ingen myresyre)	3 (20 °C, ingen myresyre)	0,003
1 (12 °C, ingen myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	0,230
2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	3 (20 °C, ingen myresyre)	0,003
2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	0,260
3 (20 °C, ingen myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	0,070

I gruppe 1, 2 og 4 sås kun et numerisk lille fermenteringstab (højst 24 %) otte timer efter foderskift (Tabel 6). I gruppe 3 var fermenteringstabet 86 % otte timer efter foderskift. En lav temperatur (12 °C) og/eller tilsætning af 2 ‰ myresyre reducerede tabet med over 60 %-point otte timer efter foderskift i forhold til 20 °C og ingen tilsætning af myresyre.

Tabel 6. Procentvist tab af frit lysin 0 og 8 timer efter opblanding. Målt dag 7 efter opstart af forsøget.

Gruppe	1	2	3	4
Temperatur	12 °C	12 °C	20 °C	20 °C
Myresyre	Ingen	2 ‰	Ingen	2 ‰
0 timer	2	-2	43	-4
8 timer	20	16	86	24

Tab af frit methionin

Fermenteringstab af frit methionin var lavt (< 20 % ved otte timer). Der var ingen signifikant forskel mellem grupperne ($p = 0,183$) eller mellem gruppernes hældninger, dvs. hastigheden for tabet ($p=0,593$).

Tab af frit treonin

Fermenteringstab af frit treonin i gruppe 3 var signifikant forskellig fra gruppe 1 og 2, og der var tendens til forskel fra gruppe 4 ($p=0,06$), (Tabel 7).

Hældningerne (fra *tid 0* til *tid 8*) i grupperne var ikke statistisk signifikant forskellige fra hinanden (Tabel 7), altså sås ingen forskel mellem grupperne med hensyn til fermenteringshastighed.

Tabel 7. Tab af frit treonin. Statistisk test af forskelle mellem grupper i laboratorieforsøget.

Gruppe	Mod gruppe	Tab af treonin	Tab over tid fra 0-8 timer
		P-Værdi (Bonferronikorrigeret)	P-værdi
1 (12 °C, ingen myresyre)	2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	1.0000	
1 (12 °C, ingen myresyre)	3 (20 °C, ingen myresyre)	0.0005	
1 (12 °C, ingen myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	0.8460	
2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	3 (20 °C, ingen myresyre)	0.0016	
2 (12 °C, 2 ‰ myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	1.0000	
3 (20 °C, ingen myresyre)	4 (20 °C, 2 ‰ myresyre)	0.0606	
Effekt (på tværs af grupper)			<.0001
Forskel mellem grupper			N.S.

Tabel 8. Procentvis tab af frit treonin 0 og 8 timer efter opblanding.

Gruppe	1	2	3	4
Temperatur	12 °C	12 °C	20 °C	20 °C
Myresyre	Ingen	2 ‰	Ingen	2 ‰
0 timer	-8,12	-7,25	3,16	-4,04
8 timer	9,24	10,11	20,54	13,32

Samlet set viste analyserne af fermenteringstab, at

- en lav temperatur (12 °C) samt tilsætning af 2 ‰ myresyre reducerede fermenteringstab af frit lysin og frit treonin
- ved en fermenteringstemperatur på 20 °C steg fermenteringstab af frit lysin til gns. 86 % otte timer efter opblanding
- tab af frit methionin var lavt og ikke forskelligt mellem grupper.

pH i vådfoder

Forskellen i pH før og efter foderskift er, at før foderskift er 100 % af foderet fermenteret siden sidste skift, mens efter foderskift er kun 33 % af foderet fermenteret, idet 67 % er friskt (Appendiks 3, Figur 3.1 og 3.2.).

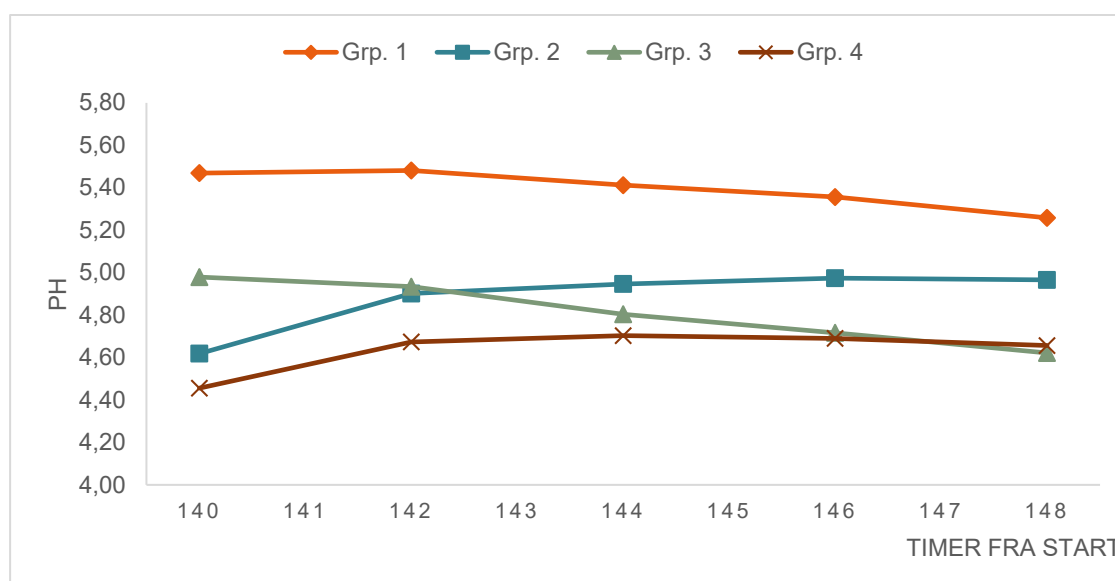
I gruppe 1 og 3 steg pH ved foderskift, hvorefter der var et pH-fald over tid. Gruppe 1 opnåede ikke så stort pH-fald som gruppe 3 (Figur 3.1). Gruppe 2 og 4 opnåede et pH-fald i forbindelse med foderskift som følge af syretilsætning. Gruppe 2 og gruppe 4 lå lavere i pH end gruppe 1 og 3 lige efter opblanding (Figur 3.2). Ved første opblanding lå de 0,4-0,5 pH-enheder lavere på grund af myresyretilsætning. Fra dag 2-7, hvor fermenteringen var i gang, var den gennemsnitlige forskel mellem gruppe 1 og 2 på 0,8 pH-enheder og forskellen mellem gruppe 3 og 4 på 0,5 pH-enheder lige efter opblanding (Tabel 9). Dette er udtryk for, at 2 ‰ myresyre er effektivt til at sænke pH ved opblanding.

Ved målingerne lige før foderskift lå gruppe 3 og 4 ca. 0,4-0,5 pH enheder lavere end gruppe 1 og 2, men der var ingen væsentlig forskel mellem gruppe 1 og 2 og gruppe 3 og 4 (Tabel 9). Temperaturen har stor betydning for fermenteringsforløbet, men tilsætning af myresyre har betydning for at sænke pH lige efter opblanding/skift af foderet.

Tabel 9. pH målt før og efter foderskift med 67 % frisk foder samt den beregnede ændring. Gennemsnit dag 2-7.

Gruppe	1	2	3	4
Temperatur	12 °C	12 °C	20 °C	20 °C
Myresyre	Ingen	2 ‰	Ingen	2 ‰
pH før foderskift	5,02	4,92	4,52	4,51
pH efter foderskift	5,42	4,60	4,97	4,44
Ændring	0,40	-0,31	0,44	-0,08

Samme billede kunne ses dag 7 (Figur 1). Lige efter opblanding var pH lavest i gruppe 2 og gruppe 4, som begge var iblandet 2 ‰ myresyre. Effekten af myresyre på pH-sænkning var større ved 12 °C end ved 20 °C. Efter et par timer var pH generelt lavere ved fermentering ved 20 °C end ved fermentering ved 12 °C. pH lå i grupperne 2-4 i normalområdet mellem 4,5-5,0, mens gruppe 1 lå omkring 5,4 (normalområderne for vådfoder fremgår af Appendiks 6).



Figur 1. pH i vådfoder på dag 7. Der er iblandet 67 % frisk foder kl. 8 (140 timer fra start af laboratorieforsøget).

Vådfoderkvalitet

De mikrobiologiske analyser viste, at antallet af mælkesyrebakterier lå i normalområdet i gruppe 1 og gruppe 3, væsentligt lavere i gruppe 2 og lidt lavere i gruppe 4. Gær var væsentligt lavere i gruppe 1 og 2 end i gruppe 3 og 4. Dette tyder på, at tilsætning af 2 % myresyre hæmmer vækst af mælkesyrebakterier men ikke af gær (Appendiks 4).

Analyserne for skimmel og *Cl. perfringens* var alle under detektionsgrænsen, hvorimod der fandtes en del enterobakterier i foderet (Tabel 10). Kontaminering med enterobakterier betyder, at der er grobund for skadelige bakterier som f.eks. *E. coli* og salmonella. Gruppe 1 var mere kontamineret end gruppe 3, mens gruppe 2 og 4, der var tilsat myresyre, var mindst kontaminerede. Indholdet af enterobakterier var faldende over tid. I gruppe 3, der lå på pH 5,0 lige efter skift af foder, faldt antallet af enterobakterier i løbet af otte timer, hvor de fleste prøver lå under detektionsgrænsen.

Disse resultater tyder på, at fermentering ved 12 °C, i modsætning til fermentering ved 20 °C, ikke er tilstrækkelig til at reducere enterobakterier. Tilsætning af 2 % myresyre reducerede enterobakterier både ved 12 °C og ved 20 °C.

Tabel 10. Enterobakterier, log CFU pr.

Gruppe	1	2	3	4
Temperatur	12 °C	12 °C	20 °C	20 °C
Myresyre	Ingen	2 %	Ingen	2 %
0 timer efter opblanding	5,10	<4,26 (1/12) ¹	4,86	<3,70 (2/12) ¹
4 timer efter foderskift	5,05	<3,21 (8/12) ¹	4,25	<3,00 (12/12) ¹
8 timer efter foderskift	4,93	<3,13 (10/12) ¹	<3,16 (9/12) ¹	<3,00 (12/12) ¹

¹ Tal i parentes angiver andelen af prøverne med resultater under detektionsgrænsen (3 log CFU pr. g).

Analyseresultaterne for organiske syrer viser, at kun gruppe 3 havde et indhold af mælkesyre svarende til normalområdet (Appendiks 4, Figur 4.3). Dette svarer til tidligere resultater, der viste, at 2 % myresyre reducerede mælkesyreindholdet til under 50 % af niveauet uden myresyre ved fermentering ved 20 °C [2].

Dette forsøg viser, at fermentering ved 12 °C uden tilsætning af 2 % myresyre gjorde ca. det samme, mens fermentering ved 12 °C med tilsætning af 2 % myresyre slet ikke dannede mælkesyre inden for de første otte timer. Et tidligere forsøg med fermentering af byg/hvede ved 12 °C viste, at selvom der var opformering af mælkesyrebakterier, var der ingen dannelse af mælkesyre før efter dag 2 [8].

Dannelse af eddikesyre lå på samme niveau i gruppe 1, 3 og 4, mens der næsten ingen eddikesyre var dannet i gruppe 2. Indholdet af myresyre var i gruppe 2 og 4 ca. 52 mmol pr. kg, hvilket svarer til 2,4 % (omregningsfaktor fra mol til procent findes i Appendix 6). Dannelsen af ethanol lå inden for normalområdet og var størst i gruppe 4 (Figur 4.3).

Samlet set viste analyseresultaterne for pH og vådfoderkvalitet, at

- fermentering ved 12 °C ikke reducerede pH til anbefalet normalområde mellem 4,5-5,0
- fermentering ved 20 °C dannede fire-fem gange mere mælkesyre og ca. samme mængde eddikesyre som fermentering ved 12 °C
- tilsætning af 2 % myresyre og fermentering ved 20 °C reducerede mælkesyredannelsen til ca. 1/3 i forhold til fermentering ved 20 °C uden tilsætning af 2 % myresyre

- tilsætning af 2 ‰ myresyre og fermentering ved 12 °C dannede næsten ingen organiske syrer
- på dag 7 var analyserne for skimmel og *Cl. perfringens* under detektionsgrænsen i alle grupper
- fermentering ved 12 °C var ikke tilstrækkelig til at reducere enterobakterier, mens fermentering ved 20 °C reducerede enterobakterier
- tilsætning af 2 ‰ myresyre reducerede enterobakterier ved 12 °C og ved 20 °C.

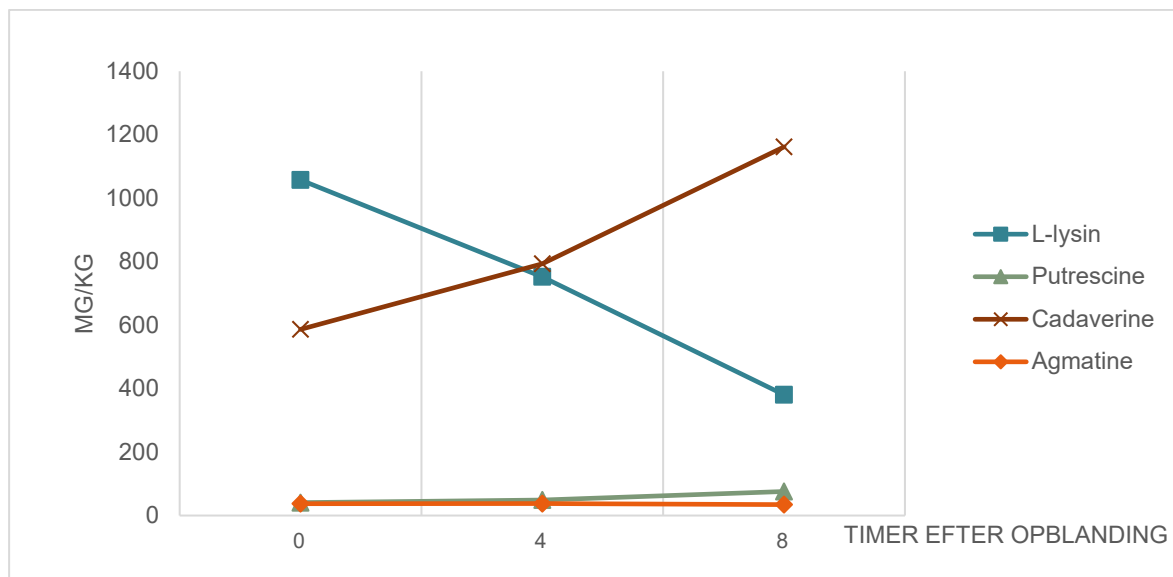
Frie aminosyrer og biogene aminer

Analyser af frie aminosyrer viser et fermenteringstab af lysin og et mindre fermenteringstab af treonin i gruppe 3 ved fermentering ved 20 °C uden tilsætning af myresyre.

De øvrige grupper er ikke forskellige, hvilket svarer til den statistiske analyse af de beregnede fermenteringstab (Appendiks 5, Figur 5.1 og 5.2.).

Analyser af frie aminosyrer sammenholdt med analyser af biogene aminer viser noget om årsagsforholdene, idet biogene aminer kan dannes ud fra aminosyrer. F.eks. dannes cadaverin ud fra lysin ved mikrobiel decarboxylering, og putrescin og agmatin dannes ud fra arginin (Appendiks 5, Figur 5.1 og 5.2.).

Grupperne 1, 2 og 4 lå meget stabilt over tid, og i gruppe 3 sås en tydelig reduktion i frit lysin og en stigning i cadaverin (Figur 2) og putrescin.



Figur 2. Indholdet af L-lysine og de biogene aminer cadaverin, agmatin og putrescin, mg/kg, ved nul, fire og otte timer efter foderskift i gruppe 3 (20 °C, ingen tilsætning af myresyre).

Konklusion

Fermentering ved lav temperatur (12 °C) og/eller tilsætning af 2 ‰ myresyre reducerede fermenteringstab af frit lysin og treonin i forhold til fermentering ved 20 °C og ingen tilsætning af myresyre. Fermenteringstab af frit lysin forløb hurtigere ved 20 °C end ved 12 °C, og mængden af cadaverin steg med tabet af frit lysin. Ved en fermenteringstemperatur på 20 °C steg fermenteringstab af frit lysin til gns. 86 % otte timer efter opblanding

Fermenteringstab af frit methionin var lavt ved begge fermenteringstemperaturer, uanset tilsætning af myresyre.

Temperaturen havde stor betydning for fermenteringsforløbet. Dannelsen af mælkesyre var lav (25 mmol pr. kg efter otte timer) ved 12 °C. Ved 20 °C blev der dannet fire-fem gange mere mælkesyre og ca. samme mængde eddikesyre som ved 12 °C, hvorved der blev opnået det ønskede pH-fald.

Tilsætning af 2 ‰ myresyre havde især betydning for at sænke pH lige efter opblanding/skift af foderet. Efter nogle timer med fermentering, målt lige før foderskift, sås ingen forskel i pH, uanset om myresyre var tilsat eller ej ved samme fermenteringstemperatur.

Tilsætning af 2 ‰ myresyre hæmmede opformering af mælkesyrebakterierne men ikke af gær. Ved fermentering ved 12 °C og tilsætning af 2 ‰ myresyre dannedes næsten ingen organiske syrer. Fermentering ved 20 °C og tilsætning af 2 ‰ myresyre reducerede mælkesyredannelsen til ca. 1/3 i forhold til uden tilsætning af 2 ‰ myresyre.

Indholdet af enterobakterier tydede også på en utilstrækkelig fermentering ved 12 °C. Tilsætning af 2 ‰ myresyre sænkede pH og reducerede indholdet af enterobakterier.

Resultaterne viser, at fermentering ved 12 °C, i modsætning til fermentering ved 20 °C, ikke er tilstrækkelig til at reducere enterobakterier. Tilsætning af 2 ‰ myresyre medvirkede til at reducere enterobakterier både ved 12 °C og ved 20 °C men hæmmede dannelsen af mælkesyrebakterier og mælkesyre og dermed selve fermenteringsprocessen.

Ved en lav temperatur er der næsten intet tab af aminosyrer, og tilsætning af myresyre hjælper derfor primært på risiko for vækst af enterobakterier. Ved en høj temperatur minimerer tilsætningen af myresyre tabet af frit lysin og treonin, mens det ikke er nødvendigt for at hæmme enterobakterier. Både ved lave og høje temperaturer er der derfor fordele ved at tilsætte myresyre, men det skal opvejes mod den øgede foderpris.

Referencer

- [1] Pedersen, A.Ø., Jensen, B.B. (2005): Nedbrydning af syntetiske aminosyrer ved fermentering af vådfoder. Erfaring nr. 0501, Landsudvalget for Svin.
- [2] Vils E., Pedersen A.Ø., Canibe N. (2018): Aminosyretab i vådfoder. Meddelelse nr. 1150. SEGES Svineproduktion.
- [3] Vils E., Canibe N., Sommer H.M. (2018): Benzoesyre hæmmer nedbrydning af frie aminosyrer i vådfoder. Meddelelse nr. 1156. SEGES Svineproduktion
- [4] Vils E. (2019): Sådan håndteres fermenteringstab af aminosyrer i vådfoder. Notat nr. 1906. SEGES Svineproduktion
- [5] Vils E. et al (2015) Manual om vådfodermanagement. SEGES Svineproduktion
- [6] Jensen, B.B. Mikkelsen, L.L, (1998): Feeding liquid diets to pigs, in: Garnsworthy, P.C., Wiseman, J. (Eds.), Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham University Press, pp. 107-126.
- [7] Carlsson D., Poulsen H.D. (2003). Phytate degradation in soaked and fermented liquid feed – effect of diet, time of soaking, heat treatment, phytase activity, pH and temperature. Animal Feed Science and Technology 103, pp.141-154
- [8] Vils E., Canibe N. (2010): Fermentering af formalet majs ved forskellige temperaturer-laboratorieundersøgelse. Erfaring nr. 1010. Videncenter for Svineproduktion, Den Rullende Afprøvning.
- [9] Canibe,N.,Jensen B.B. (2012): Fermented liquid feed-Microbiel and nutritional aspects and impact on enteric diseases in pigs. Animal Feed Science and Technology, vol. 173, pp.17-40

Deltagere

Tekniker: Erik Bach:

Afprøvning nr. 1658

NAV nr.: 1132

//NIRW//

Dyregruppe: alle

Fagområde: ernæring

Nøgleord: vådfoder, fermenteringstab, fermentering, aminosyretab

Appendiks 1

Podeskulturer

Tabel 1.1. Fodersammensætning, pH og temperatur i vådfoder samt den procentvise restmængde.

Besætning	A	B
Podeskultur udtaget d.	24/10 2019 kl. 7	7/11 2019 kl. 7
Råvaresammensætning, % af tørfoder	Hvede: 74 % Hestebønner: 7 % Tilskudsfoder: 19 % Tilskudsfoder består af: Sojaskrå Solsikkeskrå Veg. Fedt Mineraler og vitaminer	Hvede: 53 % Rug: 15 % Vinterbyg: 20 % Vårbyg: 12 % Tilskudsfoder: 25,5 % Tilskudsfoder består af: Sojaskrå: 74,2 % Hvede: 4,3 % Solsikkeskrå: 3,4 % Veg. Fedt: 2 % Hvedeklid: 2 % Mineraler og vitaminer: 14,1 %
pH i rørrest (udtaget under recirkulering)	4,73	4,95
Temperatur i rørrest		14 °C
pH i vådfoder ved udfodring	4,8	4,9
Temperatur i vådfoder °C	14,2 °C	14,4 °C
Restmængde, %	17 %	35 %

Besætning	C	D
Podeskultur udtaget d.	12/12 2019 kl. 7	9/1 2020 kl. 7.45
Råvaresammensætning, % af tørfoder	Hvede: 50,0 % Vinterbyg: 20,0 % Havre: 11,0 % Sojaskrå: 15,2 % Mineraler og vitaminer: 3,8 %	Hvede: 53,7 % Vinterbyg: 25,0 % Sojaskrå: 17,7 % Mineraler og vitaminer: 3,6 %
pH i rørrest (udtaget under recirkulering)	5,2	4,6
Temperatur i rørrest, °C	11,3 °C	17 °C
pH i vådfoder ved udfodring	5,8	5,3
Temperatur i vådfoder, °C	11,4 °C	13,8-14,5 °C
Restmængde, %	27 %	33 %

Mikrobiologiske analyser og organiske syrer i vådfoder/podekultur fra besætninger

Table 1.2. Gennemsnit af analyser af vådfoder fra fire besætninger. Der er analyseret én prøve pr. besætning. Alle andre syrer var under detektionsgrænsen i alle prøver.

Analyse	Gennemsnit
<i>Bakterier</i>	
Mælkesyrebakterier, log CFU pr. g	8,8 (fra 8,7-9,0)
Enterobakterier, log CFU pr. g	5,0 (fra 4,7-5,6)
Gær, log CFU pr. g	4,9 (fra 4,5-5,1)
Skimmel, log CFU pr. g	<3,8 (1/4) ¹
<i>Cl. perfringens</i> , log CFU pr. g	<2,0
<i>Syrer</i> ²	
Mælkesyre, mmol pr. kg	53 (fra 23-87)
Eddikesyre, mmol pr. kg	18 (fra 13-22)
Ravsyre, mmol pr. kg	1
Myresyre, mmol pr. kg	0

¹ Tal i parentes angiver andelen af prøver med resultater under detektionsgrænsen (log CFU pr. g), som var 3 for enterobakterier og skimmel og 2 for *Cl. perfringens* i vådfoder.

² Syrer blev analyseret fra tre besætninger.

Appendiks 2

Tørfoder

Tablet 2.1. Fodersammensætning af tørfoder anvendt i laboratorieforsøget.

Råvare	%
Byg	30,00
Hvede	45,14
Sojaskrå, afskallet	18,02
Sojaolie	2,50
Kridt	1,49
Monocalciumfosfat	0,59
Natriumchlorid	0,41
Lysin-L(HCL), 98,5 %	0,64
DL-Methionin, 99 %	0,50
L-Treonin, 98,5 %	0,50
0,2 % vit+min. forbl. sl.svin	0,20

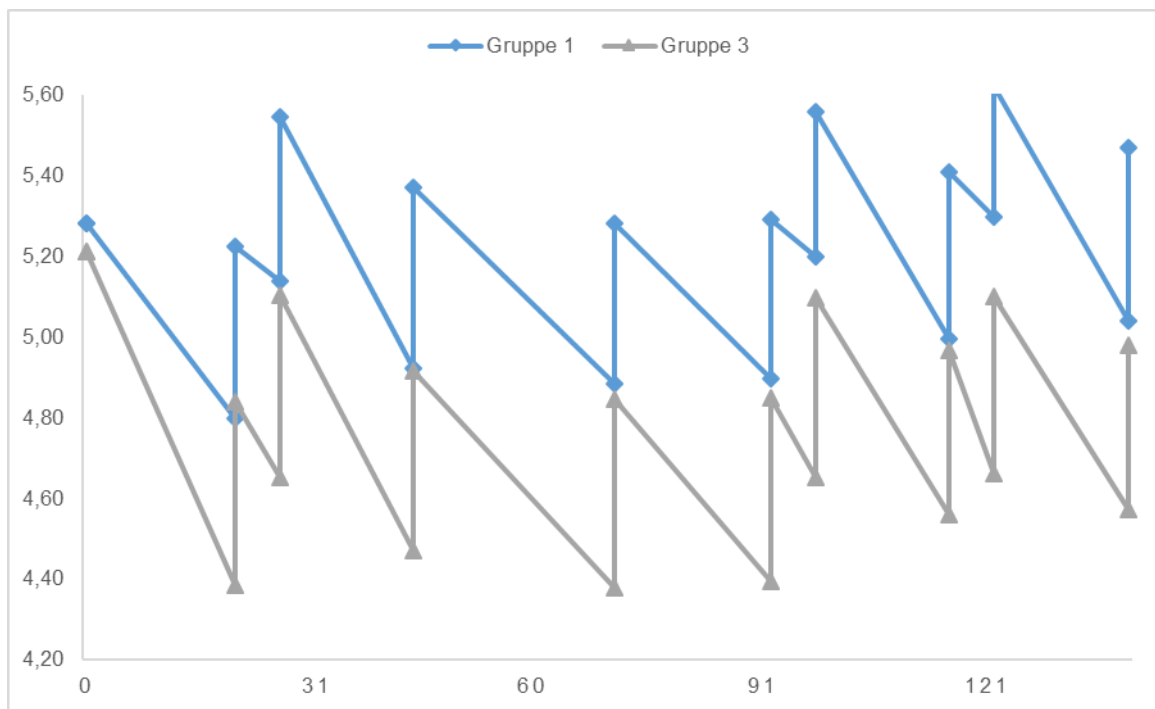
Tablet 2.2. Analyseret indhold af råprotein, totale og frie aminosyrer i tørfoder til laboratorieforsøget.

Gennemsnittet af 12 prøver er analyseret.

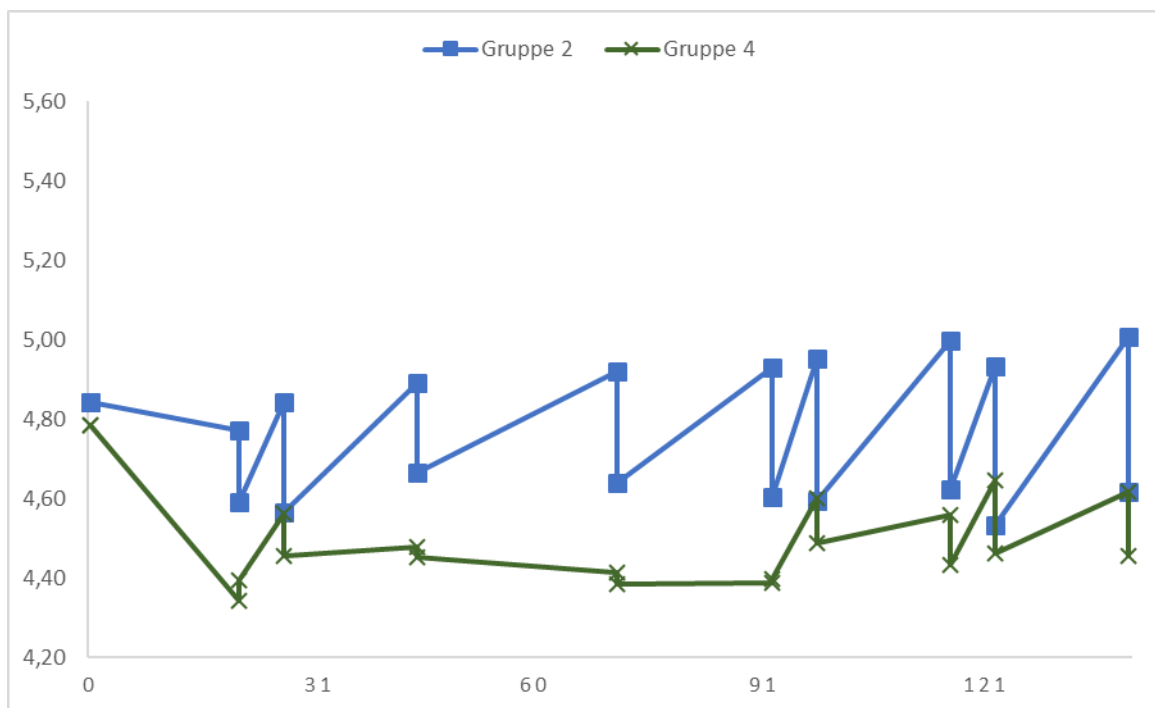
Næringsstof	Analyseret tørfoder
Vand, %	11,0
Råprotein, %	19,5
Lysin, g/kg	13,1
Methionin, g/kg	7,4
Treonin, g/kg	11,0
Frit lysin, g/kg	4,75
Frit methionin, g/kg	4,74
Frit treonin, g/kg	4,67

Appendiks 3

pH i vådfoder i laboratorieforsøget



Figur 3.1. pH i vådfoder fra gruppe 1 og 3 (uden syretilsætning) fra start til 140 timer.



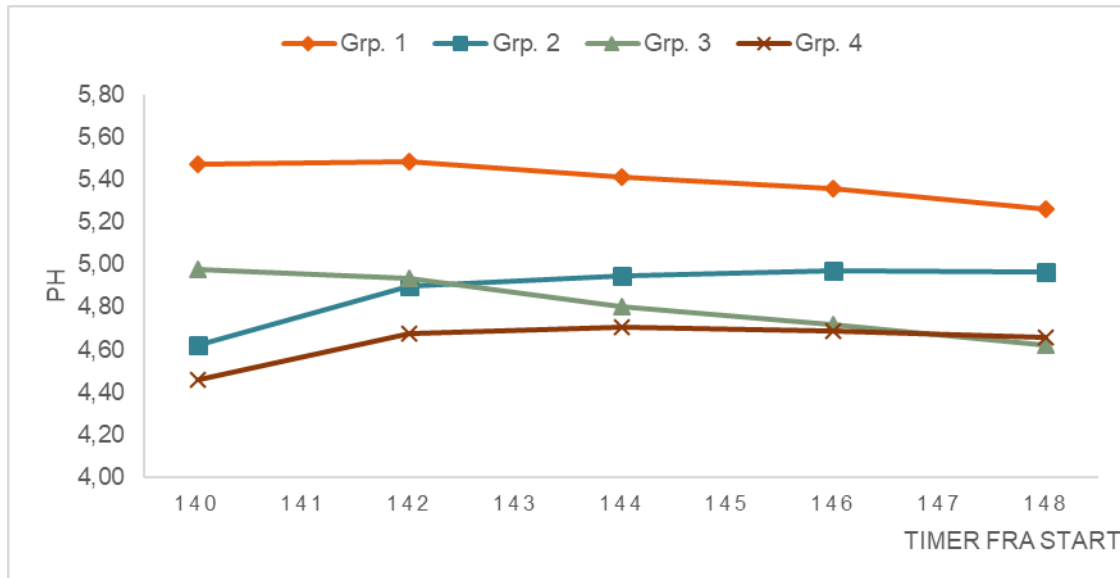
Figur 3.2. pH i vådfoder fra gruppe 2 og 4 (med syretilsætning) fra start til 140 timer.

Appendiks 4

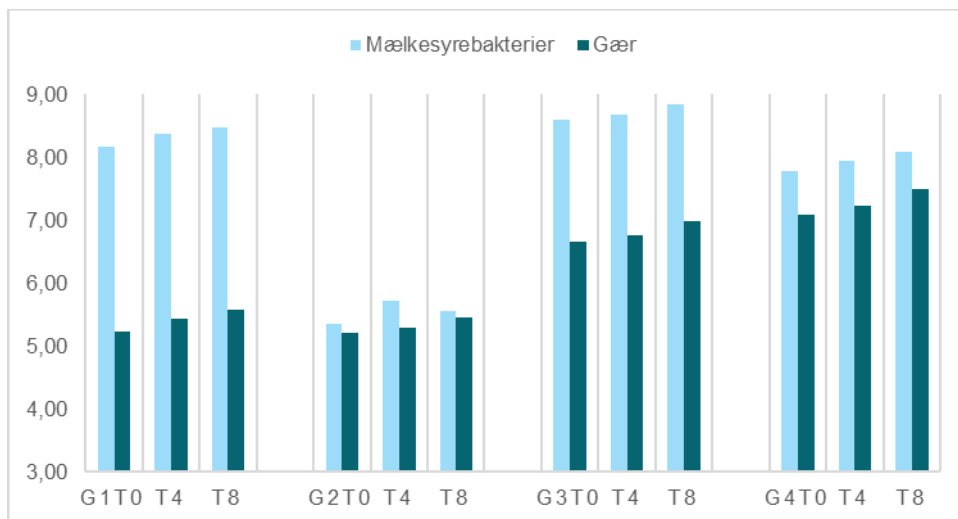
pH, mikrobiologiske analyser og organiske syrer i vådfoder på dag 7 i laboratorieforsøget

Prøver udtaget dag 7 (140, 144 og 148 timer efter forsøgets start).

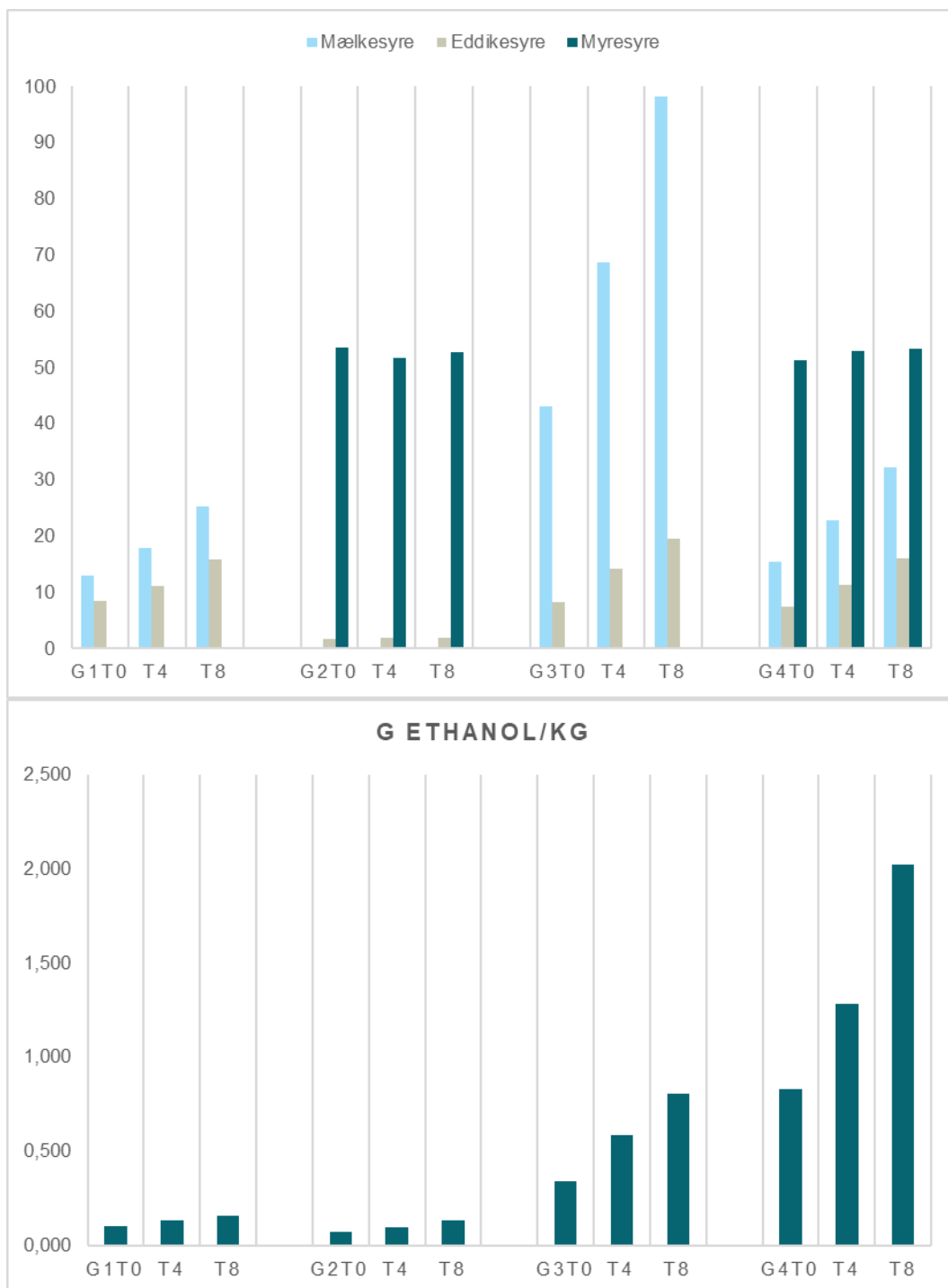
Skimmel og *Cl. Perfringens* var under detektionsgrænsen.



Figur 4.1. pH i vådfoder på dag 7. Der er iblandet 67 % frisk foder kl. 8 (140 timer fra start af laboratorieforsøget).



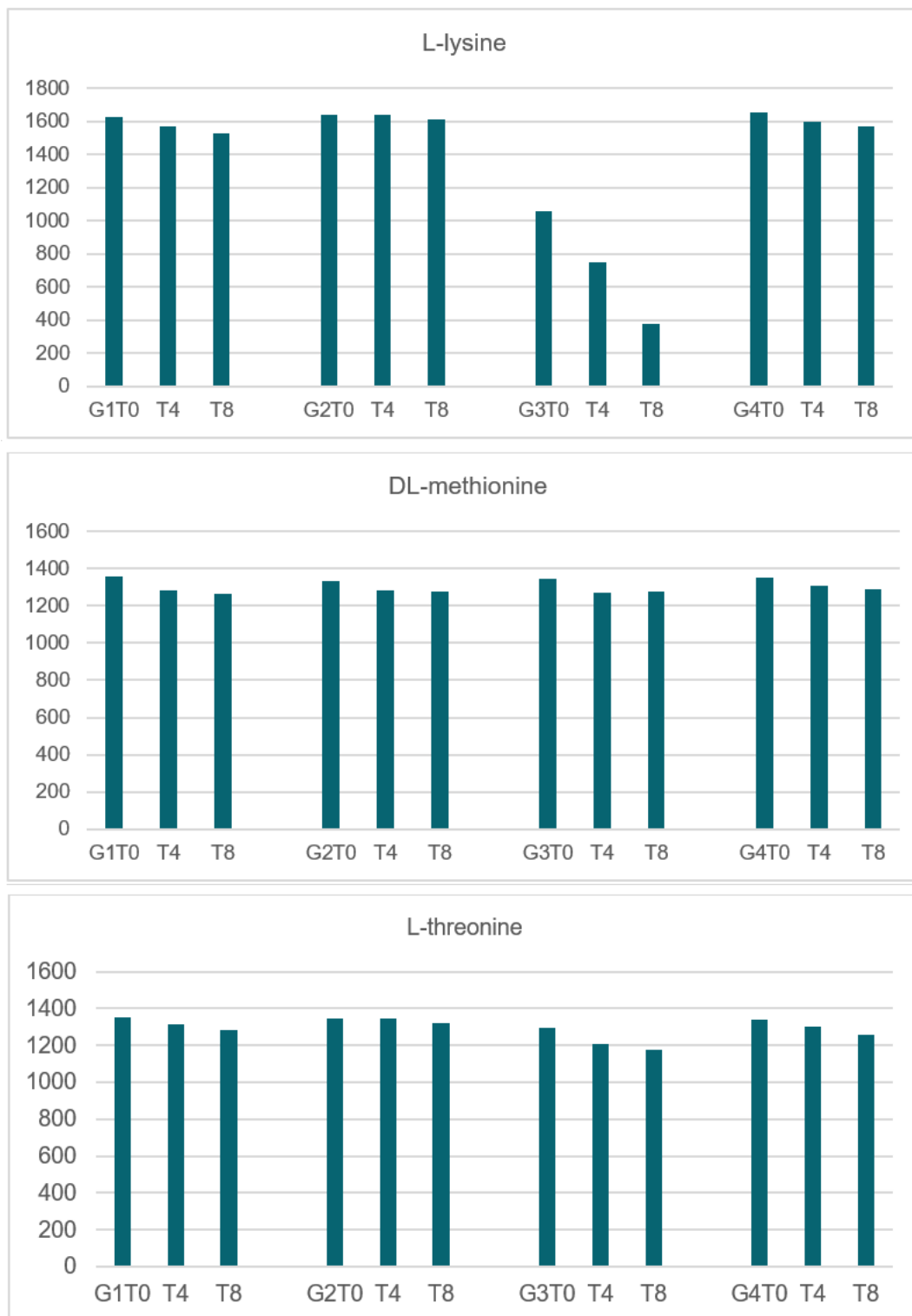
Figur 4.2. Mælkesyre bakterier og gær, log CFU pr. g. Gennemsnit af fire gentagelser pr. gruppe, med tre analyser pr. gentagelse (12 analyser pr. gruppe). G = gruppe, T = timer efter opblanding.



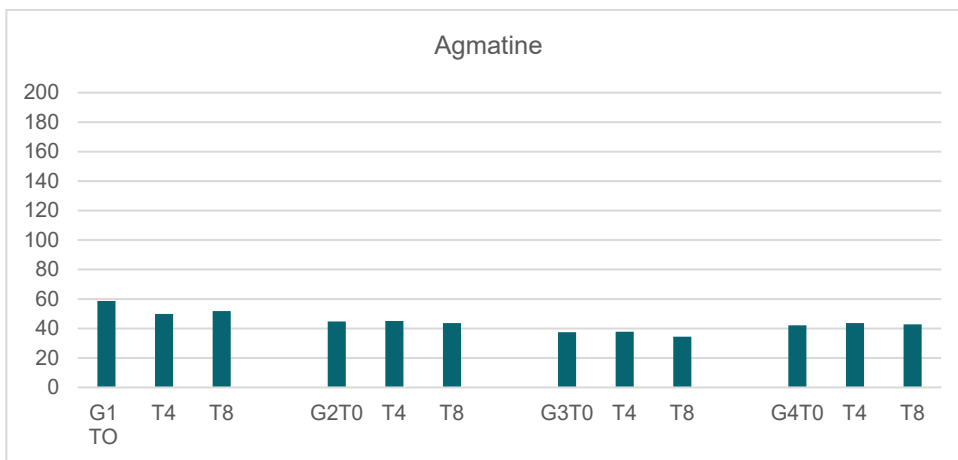
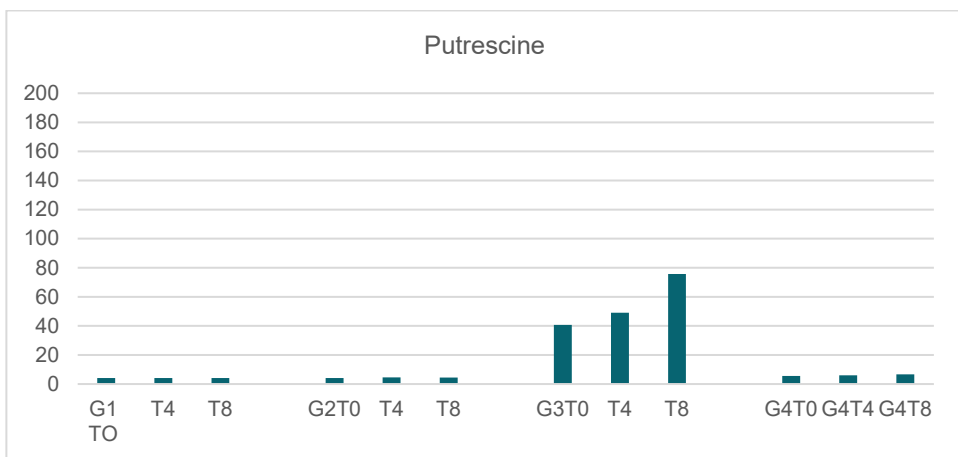
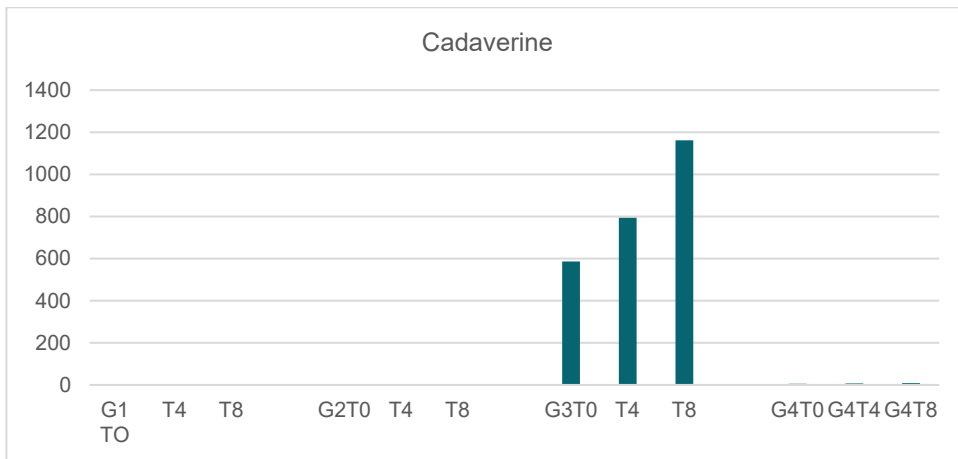
Figur 4.3. Mælkesyre, eddikesyre, myresyre, mmol pr. kg, og ethanol g/kg. Gennemsnit af fire gentagelser pr. gruppe, med tre analyser pr. gentagelse (12 analyser pr gruppe). G = gruppe, T = timer efter opblanding.

Appendiks 5

Analyseresultater af frie aminosyrer og biogene aminer, mg/kg



Figur 5.1. Analyseresultater af frie aminosyrer, mg/kg. Gennemsnit af fire gentagelser pr. gruppe med tre analyser pr. gentagelse (12 analyser pr. gruppe). G = gruppe; T = timer efter opblanding.



Figur 5.2. Analyseresultater af biogene aminer, mg/kg. Gennemsnit af fire gentagelser pr. gruppe, med tre analyser pr. gentagelse (12 analyser pr gruppe). G = gruppe; T = timer efter opblanding. Det biogene amin, Tyramin, var 0 mg/kg i alle prøver.

Appendiks 6

Tabel 6.1. Normalværdier for pH, mikrobiologi og organiske syrer i alm. og restløst vådfoder (svineproduktion.dk, 2020).

	Almindeligt vådfoder	Restløst vådfoder
pH	4,5 - 5,0	5,0-6,0
Mælkesyrebakterier	10 ⁸ -10 ⁹ CFU pr. g vådfoder	10 ⁶ -10 ⁸ CFU pr. g vådfoder
Gær	10 ⁶ -10 ⁷ CFU pr. g vådfoder	10 ⁴ -10 ⁶ CFU pr. g vådfoder
Enterobakterier	Under 10 ³ -10 ⁴ CFU pr. g vådfoder	10 ⁴ -10 ⁵ CFU pr. g vådfoder
Skimmel	Under 10 ³ CFU pr. g vådfoder	10 ³ -10 ⁴ CFU pr. g vådfoder
Clostridium perfringens	Under 10 ² CFU pr. g vådfoder	Under 10 ² -10 ⁴ CFU pr. g vådfoder
Mælkesyre	40-150 mmol pr. kg vådfoder	0-10 mmol pr. kg vådfoder
Eddikesyre	10-50 mmol pr. kg vådfoder	0-10 mmol pr. kg vådfoder
Myresyre	0-40 mmol pr. kg vådfoder	0-10 mmol pr. kg vådfoder
Ethanol	0,1-4 g pr. kg vådfoder	0,0-0,5 g pr. kg vådfoder

Tabel 6.2. Molvægte for organiske syrer og beregning af, hvor mange mmol pr. kg der skal til for opnå 1 % syre i foder.

	Mælkesyre	Eddikesyre	Myresyre	Propionsyre	Smørsyre	Benzoesyre	Ravsyre	Ethanol
Molvægt	90,08	60,05	46,03	77,08	88,12	122,13	118,09	46,07
1 % svarer til mmol pr. kg	111	167	217	130	113	82	85	217



Tlf.: 33 39 45 00

svineproduktion@seg.es.dk

Ophavsretten tilhører SEGES. Informationerne fra denne hjemmeside må anvendes i anden sammenhæng med kildeangivelse.

Ansvar: Informationerne på denne side er af generel karakter og søger ikke at løse individuelle eller konkrete rådgivningsbehov.

SEGES er således i intet tilfælde ansvarlig for tab, direkte såvel som indirekte, som brugere måtte lide ved at anvende de indlagte informationer.