

Weaned and older pigs nutritional need for zinc under Danish production conditions

Advisory report from DCA - Danish Centre for Food and Agriculture

By *Tina Skau Nielsen, Sally Hansen & Tofuko Woyengo*

Department of Animal and Veterinary Sciences

Data sheet

Title:	Weaned and older pigs nutritional need for zinc under Danish production conditions
Authors:	Associate Professor Tina Skau Nielsen, PhD student Sally Hansen and Associate professor Tofuko A. Woyengo, Department of Animal and Veterinary Sciences
Reviewers:	Professor, Section Manager, Knud Erik Bach Knudsen, Department of Animal and Veterinary Sciences
Quality assurance, DCA:	Klaus Horsted, DCA Centre Unit
Commissioned by:	Danish Veterinary and Food Administration
Date for request/submission:	12.11.2019 / 31.08.2023
File no:	2019-760-001130
Funding:	This report has been prepared as part of the "Framework Agreement on the Provision of research-based Policy Support" between the Danish Ministry of Food, Agriculture and Fisheries (MFVM) and Aarhus University (AU) according to ID no 19-H3-02 in "Performance Agreement Animal Production 2019-2022".
External comments:	No
External contributions:	No
Comments to the answer:	<p>As part of this report, new data has been collected and analyzed, and the report and its appendices presents results, which – at the time of publication– have not been peer reviewed by external parties or published elsewhere. In case of sub-sequent publishing in a peer review journal, changes may appear.</p> <p>In addition to this report two submitted manuscripts are included in the answer to the Danish Veterinary and Food Administration. In order to facilitate later publication in a Peer review journal these manuscripts cannot be published together with this report but can be distributed as hard copies upon request.</p>
To be cited as:	Nielsen, T.S., Hansen S. and Woyengo T.A. 2023. Weaned and older pigs nutritional need for zinc under Danish production conditions. 23 pages. Advisory report from DCA – Danish Centre for Food and Agriculture, Aarhus University, submitted: 31/8-2023.
Policy support from DCA:	Further reading at https://dca.au.dk/raadgivning/

1. DESCRIPTION OF THE TASK

1.1 Aim

The purpose of this assignment was to determine the nutritional requirement for zinc (Zn) in weaned and older pigs under typical Danish production conditions (conventional housing, feeding and management), in order to recommend potential new maximum contents of Zn, as a feed additive for pigs. For weaned pigs the aims were to distinguish between the effect of Zn as a micronutrient and the effect as a “medicine” to prevent weaning diarrhea but also to investigate whether the weaned pig’s ability to cope with an *Escherichia coli* infection depended on the dietary Zn level. For growing pigs, the aim was to determine, if the Zn naturally present in the ingredients of a typical Danish feed ration was enough to cover the need for Zn.

1.2 Experiments and decisions

In order to fulfill the aims, the following four pig experiments have been carried out at AU-Viborg in the period from 2019 to 2022.

- Exp. 1** Zn dose-response experiment in pigs 0-3 weeks postweaning (6 doses of Zn)
- Exp. 2** Zn dose-response experiment in 10-30 kg pigs (5 doses of Zn)
- Exp. 3** Zn dose-response experiment in 30-100 kg pigs (3 doses of Zn)
- Exp. 4** Effect of dietary zinc level on the response to *Escherichia coli* infection in weaned pigs

The collected work also included a meta-analysis of previously published data in the literature looking into the relationship between Zn intake, dietary content and faecal excretion in pigs.

The choice of dietary Zn level applied from weaning until 10 kg of body weight in Exp 2 (the growth period before the 10-30 kg Zn dose-response period), was based on findings of the most optimal dietary Zn level in Exp. 1. Likewise, the choice of dietary Zn levels applied from weaning to 10 kg and from 10 to 30 kg in Exp 3 (the growth period before the 30-100 kg Zn dose response period) was based on findings of the most optimal Zn levels in Exp 1 and Exp 2.

The overall intent with the experimental work was not to investigate the effect of different sources of added Zn to diets, i.e. chelated versus inorganic forms of Zn. Since Zn in the form of zinc oxide (ZnO) is still the cheapest and most widely used form of Zn added to pig feed, ZnO of high purity

(80% Zn; VetZink, Vepidan ApS, Løgstør) was chosen as the form of added Zn, applied in all experiments. Furthermore, to reflect Danish feed practices where high levels of the enzyme phytase is typically added to pig diets, standard high doses of phytase was included in all experimental feed. Also, to reflect Danish feed practices, standard levels of copper, as applied by the Danish feed industry, in the diets of pigs during different growth intervals were applied in the experiments.

Advanced analytical techniques (16S rRNA pyrosequencing and non-targeted metabolomics) have been applied to faeces and blood samples, respectively, from weaned pigs in Exp. 1, to distinguish between the effect of Zn as a micronutrient and the effect as a “medicine” to prevent weaning diarrhea.

1.3 Manuscripts and outcomes

The above-mentioned experiments and work have resulted in the following six scientific manuscripts (2 published, 2 submitted, 2 in preparation)

1. Determination of the optimal level of dietary zinc for newly weaned pigs: A dose-response study (published, *Animals*, 2022). (Exp. 1)
2. Blood metabolomic and fecal microbial profile of pigs fed different dietary zinc levels after weaning (manuscript in preparation) (Exp. 1)
3. Determination of the optimal level of dietary zinc for pigs between 10 and 30 kg of body weight (submitted to *J. Anim. Sci.*) (Exp. 2)
4. Growing pigs can maintain productivity and serum zinc without added zinc to the diet (manuscript in preparation) (Exp. 3)
5. Effect of dietary zinc on *Escherichia coli* infected newly weaned pigs (submitted to *J. Anim. Sci.*) (Exp. 4)
6. The relationship between zinc intake, dietary content, and faecal excretion in pigs (published, *Livest. Sci.*, 2023) (meta-analysis of published data)

The published and submitted manuscripts are included in this report in full lengths including a

Danish summary for each. For the manuscripts in preparation, extended Danish summaries of the findings are provided.

Furthermore, six peer reviewed abstracts originating from the above mentioned work have been presented at international scientific meetings (published, not included in this report).

1.4 Contributions

Associate Professor, Tina Skau Nielsen (PhD supervisor) has been the project leader and responsible for the main part of the experimental designs and practical completion of experiments. The majority of data analysis was conducted by Sally V. Hansen, who has been affiliated the project as a PhD student from August 2020 to December 2023, supervised by Associate Professor Tofuko A. Woyengo, Tina Skau Nielsen and Natalja Nørskov. The PhD was financed by a Aarhus University starting grant awarded to Tofuko A. Woyengo. In addition, Post Doc, Mihai Curtasu, Senior Scientist, Mette Skou Hedemann and Senior Scientist Nuria Canibe (all Dept. Animal and Veterinary Sciences, Aarhus University, Denmark) and Senior Lecturer, Elham Assadi Soumeih (School of Agriculture & Food Sciences, University of Queensland, Australia) have contributed with analysis of samples and data, as well as with writing of manuscripts.

2. BACKGROUND:

2.1 Why zinc is important

Zinc is an essential micronutrient, which means that the organism contains relatively small amounts (< 50 mg per kg body weight) and that in most physiological states, Zn should also be provided through the feed in small amounts (< 100 mg/kg). Even though the level of Zn in the body is low, Zn plays important roles for normal growth, cell division and differentiation as well as in energy metabolism in cells and it functions as a catalytical, regulatory and structural part of hundreds of Zn-dependent enzymes and proteins in the body. Examples of these metalloenzymes where Zn is integrated are carboxypeptidase, alcohol dehydrogenase and collagenase involved in protein digestion in the small intestine, alcohol metabolism in the liver and wound healing, respectively. Zinc is also essential for a well-functioning immune system, since cells of the immune system are some of the cells in the body with the highest division rate.

Zinc can be found in all of the body's tissues, but only small amounts are stored in for example the liver, bones and muscles and physiologically accessible, since high concentrations of Zn are poisonous. This means, that large Zn reserves from where Zn can be drawn in situations of acute need, such as during different types of stress or physiological transitions (change in environment or management e.g. mixing of pigs, diet-transitions, disease pressure) or in situations where the Zn intake is low, are not present. Therefore, sufficient daily intake of Zn is necessary.

The clinical, i.e. visible symptoms of Zn deficiency, are reduced growth and appetite, as well as diarrhea and more long-term Zn deficiency can result in an abnormal skin condition called parakeratosis (small wounds of the skin). Sub-clinical, i.e. invisible, and most likely more common signs of Zn deficiency, are reduced digestive enzyme activity, which reduces the pig's capability to digest the feed. This can indirectly contribute to the development of diarrhea, since undigested protein and carbohydrate then pass on from the small to the large intestine, where it can act as fuel for microorganisms, both commensal and pathogens. It has also been suggested that Zn deficiency is linked to diarrhea through increasing the intestinal permeability.

2.2 Zinc absorption and excretion

Overall, Zn should be supplied via the feed in sufficient amounts according to the pig's need. However, at the same time it is also essential, that the Zn in the feed is available for absorption, meaning that it should be present in a form that can be taken up by the body. Zinc is absorbed primarily in the small intestine to the blood, either in the dissociated ionized form (Zn^{2+}) or attached to an organic ligand, such as an amino acid. Zinc ions are reactive and easily form complexes with surrounding minerals and other nutrients, which can lower their absorption. An example is phytic acid, the primary storage form of phosphorus in seeds and grains. Phytic acid can complex bind Zn^{2+} ions as well as other di-valent cations and lower their availability for the animal. Lastly, the effectiveness by which Zn is absorbed into the body, is affected by the presence of other di-valent cations in the feed (e.g. copper, manganese, iron, magnesium). These minerals compete over transport mechanisms in the intestine, moving them from the intestinal lumen into the enterocyte and further into the blood. As an example, Zn and copper are antagonistic to each other since a very high level of dietary Zn reduces the bioavailability of dietary copper and the other way around.

The proportion of Zn in the diet not absorbed by the animal is excreted through faeces. For growing

pigs, the availability (digestibility) of Zn is typically around 30 %, meaning that the majority of dietary Zn is excreted to the manure and spread onto farmland. Zinc is considered to be a heavy metal which accumulates in soil and too much Zn in soil has negative impact on plant growth, soil fauna and may contribute to development of antimicrobial resistance genes in soil microorganisms.

2.3 The need for zinc – physiological requirement and recommendations

An animal’s physiological requirement for a mineral e.g. Zn is defined as the amount the animal uses for maintenance of life (status quo), corresponding to the inevitable amount lost in the turnover during the maintenance of the organism, plus the amount bound in blood and used for performance, such as growth and reproduction or secreted in milk during lactation. The physiological requirement is not identical to the feeding recommendations (Table 1), which often contain considerable safety margins, taking into account the lack of knowledge of the exact physiological requirement and uncertainties like variations in requirement between animals in a group, availability and feed composition.

Table 1. Maximum allowed content of Zn in diets according to the EU feed legislation, as proposed by the European Food Safety Authority (EFSA), dietary content of Zn recommended by the National Research Council (NRC) and SEGES for different categories of pigs and daily needs according to NRC.

Animal Category	EU feed legislation, mg/kg	Proposed by EFSA, mg/kg	Recommended by NRC, mg/kg	Daily needs (NRC), mg/day	Recommended by SEGES, mg/feed unit
Weaned pigs (6-25 kg)	150	150	80-100 ^a	26.6-72.4 ^b	100
Growing-finishing (25-100 kg)	100	100	50-60 ^c	90.2-139.4 ^d	100

^a Recommended mg Zn/kg according to body weight (BW): 6-11 kg BW: 100 mg Zn/kg; 11-25 kg BW: 80 mg Zn/kg

^b Daily needs, mg Zn according to BW: 5-7 kg BW: 26.6 mg Zn/kg; 7-11 kg BW: 46.8 mg Zn/kg; 11-25 kg BW: 72.4 mg Zn/day

^c Recommended mg Zn/kg according to BW: 25-50 kg BW: 60 mg Zn/kg; 50-135 kg BW: 50 mg Zn/kg

^d Daily needs, mg Zn according to BW: 25-50 kg BW: 90.2 mg Zn/day; 50-75 kg BW: 105.9 mg Zn/day; 75-100 kg BW: 125.3 mg Zn/day; 100-135 kg BW: 139.4 mg Zn/day

When determining the requirement of a specific element by supplementing increasing amounts of the mineral, the challenge is to identify the criteria i.e. specific biological key parameters, that can be used as reliable criteria for adequacy since the amount, which prevents

clinical deficiency signs may not support maximum growth, number of live born, milk production etc.

As shown in Table 1, the current feeding recommendations proposed by the European Food Safety Authority (EFSA), the National Research Council (NRC) and by SEGES in Denmark, state the level of Zn per kg diet (= based on concentrations of Zn in the feed) and as such, the daily intake of Zn is very much depending on the daily feed intake. The disadvantage of this ‘concentration based’ principle is, that it does not take into account that animals in physiological critical periods of their life often have a reduced feed intake compared with animals in steady physiological periods (“steady state”). Critical periods comprise the first days after weaning, where the daily feed intake is very low (or even zero) and in certain phases of reproduction (mating and embryo implantation, farrowing and early lactation). Thus, to ensure animal health, welfare and productivity, there is increasing focus, that feeding recommendations on Zn must be based on daily needs (i.e. mg Zn per day) rather than given as a concentration in the feed (i.e. mg Zn per kg diet). As shown in Table 1, only NRC state the daily need for Zn on a daily basis.

In Denmark, piglets are weaned at 28 days of age (mean) having a bodyweight of about 7 kg. NRC recommend that pigs weighing 7-11 kg are provided 46.8 mg Zn/day. To obtain that amount of daily Zn, weaned pigs need to consume 468 g feed/day from the first day of weaning, if the feed contains 100 mg/kg (ppm) Zn as recommended by NRC and SEGES or 312 g/day if the feed contains 150 ppm Zn, as is from June 2022 the upper EU legislative limit for newly weaned pigs. However, most piglets will consume much less feed during the first days after weaning and therefore weaned pigs offered feed containing 100-150 ppm Zn are very likely to have a Zn intake considerably below the required 46.8 mg Zn/day. Provided that NRC’s recommendation of 46.8 mg Zn/day is correct, a dietary Zn content of 100-150 ppm is insufficient in the critical first period after weaning to ensure a daily Zn intake of 46.8 mg. It should be noted, that NRC’s Zn recommendations have not been updated for many years, are based on empirical calculations and not experimentally investigated.

It can therefore be argued that there is need for experimental determination of the optimal level of dietary Zn, especially to weaned pigs. However, since growing pigs consume larger quantities of feed with a typical concentration of 70 mg added Zn/kg for a long period of time, it is also highly relevant to investigate, whether the need for Zn can be covered through the natural content of Zn

in feed ingredients, to potentially lower the amounts of Zn excreted to the environment.

3. Scientific outcomes in Danish

3.1 Dansk sammendrag af manuskript 1 (forsøg 1)

Bestemmelse af det optimale indhold af zink i foderet til nyfravænnede grise: Et dosis-respons studie

Introduktion

Ny-fravænnede grise er udfordret af mange stres-faktorer og en af disse faktorer er overgangen og omstillingen fra indtag af flydende so mælk til fast vegetabilsk foder. Dette medfører ofte, at mange grise indtager meget lidt foder de første 2 uger, hvilket kan resultere i mangel på forskellige næringstoffer, inklusive zink (Zn), hvis foderet ikke indeholder tilstrækkelige mængder. Den nuværende EU lovgivning tillader maksimalt 150 ppm total Zn i foder til nyfravænnede grise og samtidig anbefaler NRC et dagligt indtag af Zn på 46.8 mg for grise med en kropsvægt mellem 7 og 11 kg. Forsøget undersøgte hvordan Zn indholdet i foderet til smågrise de første 2-3 uger efter fravæning påvirkede produktivitet (foderindtag og tilvækst), Zn koncentrationen i blod og risiko for diarré, som de primære mål for om behovet for Zn var opfyldt. Hypotesen var, at nyfravænnede grise har brug for mere end 150 ppm Zn i foderet for at opnå maksimal produktivitet og for at opretholde Zn status i blodet.

Materiale og Metode

Forsøget inkluderede 180 nyfravænnede grise (90 galtgrise og 90 hun grise) indkøbt fra en produktionsbesætning ved fravæning (28 dage gamle = dag 0) og med en gennemsnitsvægt på $7,63 \pm 0,98$ kg. Grisene blev enkeltdyrsopstaldet og tildelt samme basal foderblanding med seks forskellige niveauer af tilsat zink i form af zinkoxid (ZnO) fra dag 0 til 21 efter fravæning: 100, 450, 950, 1.450, 1.950 eller 2.450 ppm. Diæternes analyserede indhold af Zn var 153, 493, 1022, 1601, 2052 og 2407 ppm. Grise og foderrester blev vejede ugentligt og der blev taget blodprøver dag 0, 7, 14 og 21. Fæces blev scoret visuelt dagligt jf. en fire-trins-skala (1 = fast og formligt; 2 = blød og formligt; 3 = udflydende; 4 = vandig), hvor score 3 og 4 blev kategoriseret som diarré. Ved forsøgets afslutning dag 21, blev der ligeledes udtaget en fæcesprøve.

Resultater

Grisenes foderindtag og tilvækst kunne beskrives med en kvadratisk model afhængig af foderets Zn indhold, og maksimal produktivitet (foderindtag og tilvækst) blev beregnet til at kunne opnås med omkring 1400 ppm Zn i foderet. Dette svarer omregnet til dagligt Zn indtag de første to uger efter fravæning til 400 mg/dag som den optimale Zn forsyning. Serum Zn indholdet var 767 ± 19 µg/L på dag 0. Den første uge efter fravæning faldt serum Zn koncentrationen i forhold til fravænningsniveauet hos grise tildelt under 1000 ppm Zn i foderet men var generelt stigende med stigende indhold af Zn i foderet. De grise, hvis serum Zn koncentration i løbet af forsøget blev lavere end serum Zn indholdet på fravænningsdagen (767 µg/L), havde op til 60% større risiko for diarré i forhold til grise, hvor serum Zn niveauet var opretholdt i forhold til fravænningsniveauet. Det blev beregnet, at foderet skulle indeholde 1100 ppm Zn, for at opretholde serum Zn koncentration en uge efter fravæning, svarende til et dagligt zinkindtag på 166 mg/dag. Kun 2407 ppm Zn i foderet havde en diarré-reducerende effekt i forhold til 153 ppm Zn. Ligeledes var det kun 2407 versus 153 ppm Zn i foderet som signifikant reducerede antallet af total bakterier, total antal *Lactobacilli* og total antal *Escherichia coli* i fæces.

Konklusion

Forsøgets resultater indikerer, at nyfravænnede grise har brug for mere end 150 ppm Zn i foderet for at kunne opretholde maksimal produktivitet og serum Zn koncentration og at 1400 ppm Zn, svarende til et dagligt Zn indtag på ca. 400 mg fører til maksimal produktivitet. Desuden øges risikoen for udvikling af diarré markant, når serum Zn status falder under knap 800 µg/L og det kræver ca. 1100 ppm Zn i foderet at opretholde en tilstrækkelig serum Zn status i ugen efter fravæning. Resultaterne indikerer således, at behovet for Zn i nyfravænnede grise er væsentligt (ca. 9 gange) højere end det antages på nuværende tidspunkt.

3.2 Dansk sammendrag af manuskript 2 (forsøg 1)

Effekter af forskellige niveauer af zink i foderet til nyfravænnede grise på sammensætningen af metabolitter i blod og mikrobiota i fæces

Introduktion

Høje niveauer af Zn i foderet (2500-3000 ppm) har tidligere vist at reducere forekomst og

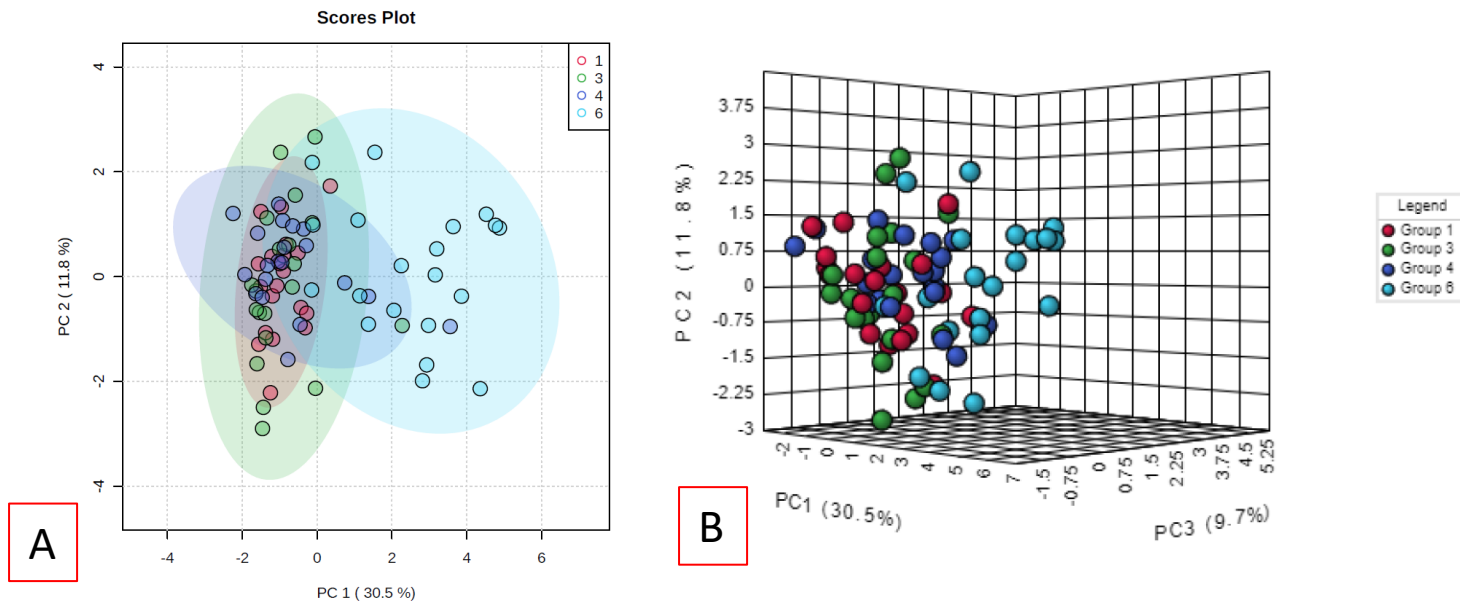
alvorlighed af diarre hos grise i den første periode efter fravæning samtidig med at produktivitet i form af vækst var højere, end når grisene blev tildelt lave niveauer af Zn (100-150). En af de foreslåede mekanismer bag denne effekt var Zn's evne til at modulere den mikrobielle sammensætning i specielt tyndtarmen, hvis tildelt i høje doser. Der er dog ingen studier som tidligere har undersøgt effekten af stigende mængde Zn i foderet til fravæningsgrise på det metaboliske respons i f.eks. blod. Metabolomics er en teknik, hvor man analyserer metabolitter i biologiske prøver, f.eks. plasma- eller urinprøver. Metabolitter er nedbrydningsprodukter, der dannes når næringsstofferne omsættes. Metabolomics er eksplorativ, dvs. man måler mange stoffer i en og samme måling uden på forhånd at have fastlagt, hvilke komponenter man analyserer for. På den måde kan metoden afsløre ukendte effekter, som man ellers ikke ville have fundet, fordi man ikke forventede dem. Formålet med studiet var at identificere og diskriminere blodmetabolitter hos grise tildelt stigende mængde Zn i foderet dag 0-21 efter fravæning vha. untargeted metabolomics samt at undersøge den mikrobielle sammensætning i fæces i et forsøg på at skelne mellem, hvornår Zn går fra at være et mikronæringsstof til eventuelt at udøve biologiske effekter gennem andre mekanismer.

Materiale og Metode

Forsøget inkluderede analyser af blod og fæcesprøver fra 80 ud af de 180 nyfravænnede grise som indgik i forsøg 1 (Zn dosis respons forsøg fra dag 0-21 efter fravæning) beskrevet i manuskript 1. Blod og fæcesprøver blev udtaget på forsøgets sidste dag (dag 21) fra tilfældigt udvalgte grise tildelt hhv. 155 (D1), 1024 (D3), 1604 (D4) og 2419 (D6) ppm Zn fra dag 0 til 21 efter fravæning (n=20/Zn niveau). Zinkniveau D1 og D6 repræsenterer hhv. det laveste og højeste Zn niveau anvendt i forsøget, nogenlunde identisk med nuværende og tidligere maksimalt tilladte mængde for totalindhold af Zn i foder til nyfravænnede grise. De øvrige to behandlinger (D3 og D4) repræsenterer de to foder-Zn niveauer, som ligger tættest det foder Zn niveau vi tidligere (manuskript 1) fandt som det optimale niveau af Zn i foderet 0-2 uger efter fravæning (1400 ppm). Serum blev processeret og analyseret ved hjælp af untargeted uHPLC-MSMS metabolomics og principiel component analyse (PCA) og partial least squares regressionsanalyse (PLS) blev anvendt til at identificere metabolitter som adskilte prøverne ved hjælp af MetaboAnalyst v5.0 software. Oprensat DNA fra fæces blev anvendt til at undersøge den mikrobielle sammensætning vha. 16S rRNA amplicon sekventering.

Resultater

Evaluering af PCA score plots viste en tydelig gruppering af blodprøver jf. Zn niveau i både positiv og negativ mode. Principiel component 1 (PC1), PC2 og PC3 forklarede hhv. 30,5, 11,8 og 9,7% af variationen i prøverne (Figur 1) og plottene viste ingen synlig separering mellem D1, D3 og D4, men med tydelig separering mellem D6 og de øvrige Zn niveauer (Figur 1A og 1B).



Figur 1. Score-plot (A) og 3D score plot (B) mellem udvalgte principielle componenter. De forklarede variationer er angivet i parenteser.

Resultaterne viste, at adskillige af de metabolitter som var involveret i separeringen mellem Zn niveauer var metabolitter relateret til tryptofan og fenylalanine metabolisme (Tabel 1), hvilket indikerer, at aromatiske aminosyrer er involveret i samspillet mellem mikrobiota i tarmen og værten. Hippursyre er et fenylalanin derivativ og 4-ethylphenyl sulfat er associeret med tarmmikrobiometabolisme. Disse metabolitter blev i høj grad reduceret af det højeste niveau af Zn i foderet (2419 ppm), hvilket antyder, at høje niveauer af Zn i foderet reducerer forekomsten af bakterier, som producerer indoler fra tryptofan eller alternativt øger forekomsten af bakterier, som kan nedbryde indoler.

Tabel 1. Foreløbigt identificerede metabolitter i serum som adskiller foder Zn niveauer

Metabolite	M/Z ratio	RT	Peak intensity (dietary Zn levels)				SEM	P value
			155	1 024	1 604	2 419		
5-Hydroxy-6-methoxyindole glucuronide	338.0883	3.23	63 775 ^a	74 671 ^a	67 897 ^a	11 084 ^b	8 824	<0.001
Hippuric acid	178.0511	3.64	491 946 ^a	472 874 ^a	468 256 ^a	275 053 ^b	30 536	<0.001
Hydroquinone sulfate	188.9864	3.06	23 690 ^a	27 534 ^a	47 450 ^b	44 326 ^b	4 524	<0.001
4-Ethylphenyl sulfate	201.0229	5.18	47 385 ^{ab}	54 932 ^a	67 547 ^a	24 264 ^b	11 249	0.05

^{a,b} Means in a row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

Resultater fra sekventering af den mikrobielle sammensætning i fæces viste, at det kun var D6 som reducerede ”richness” af forskellige amplicon sekvens varianter sammenlignet med D1, D3 og D4. Principiel component analyse af såkaldt beta-diversitet viste ingen gruppering associeret med D1, D3 og D4, mens D6 var signifikant forskellig fra de øvrige. Forskelle i bakterielle taxa blev analyseret vha. linear discriminant analysis effect size (LefSe). Dette viste på genus niveau signifikant forøgede *Clostridium sensu stricto*, *Terrisporobacter*, *Dorea* og *Prevotellaceae_NK3B31* og et fald i relativ abundance af *Methanobrevibacter*, *Treponema*, *Megasphaera* og *UcG 002* genera i grise, som havde fået det højeste niveau af Zn i forhold til de øvrige grupper. Nogle af disse taxa er involveret i dannelsen af metabolitter, som fremmer tarmens immunfunktion, hvilket måske kan være med til at forklare virkningsmekanismen bag den sundhedsfremmende effekt af høje doser Zn i foderet.

Konklusion

Resultaterne af både blodets metabolitsammensætning og den mikrobielle sammensætning i fæces på dag 21 efter fravæning indikerer, at det kun er det højeste niveau af Zn i foderet (2419 ppm) som medfører markante ændringer i forhold til de øvrige tre Zn niveauer. Det konkluderes derfor, at de 1400 ppm Zn vi i forsøg 1 (manuskript 1) fandt, som det mest optimale niveau af Zn i foderet til nyfravænnede grise ikke vil virke anderledes på sammensætningen af blodmetabolitter og den mikrobielle sammensætning i fæces end lavere niveauer af Zn.

3.3 Dansk sammendrag af manuskript 3 (forsøg 2)

Bestemmelse af det optimale indhold af zink i foderet til grise mellem 10 og 30 kg

Introduktion

Zinc (Zn) behovet hos nyfravænnede grise er relativt velbelyst i forhold til Zn behovet hos grise mellem 10 og 30 kg. Overskydende Zn som ikke absorberes af grisen udskilles til miljøet via fæces,

hvor det udgør en miljøbelastning. Derfor er der et klart incitament til at undersøge mere præcist hvor meget Zn grise i dette vægtinterval har behov for, så overforsyning undgås. Dette studie undersøger det optimale indhold af Zn i foderet til 10-30 kg grise, når grisene, på baggrund af resultater fra forsøg 1, har været forsynet med ca. 1500 ppm Zn fra fravæning dag 28 (d0) indtil 2 uger efter fravæning (7-10 kg).

Materiale og Metode

Forsøget inkluderede 150 grise (30 grise/blok, i alt 76 galt-grise og 74 hun-grise) indkøbt fra en produktionsbesætning ved fravæning (28 dage gamle). De første 2 uger var grisene gruppeopstaldet (8-9 grise/sti) og blev tildelt fravænningsfoder med et totalt Zn indhold på 1474 ppm, baseret på resultater fra forsøg 1. Efter 2 uger havde grisene en gennemsnitsvægt på 10.1 ± 0.3 kg. De efterfølgende 4 uger (uge 2 til 6 efter fravæning) blev grisene opstaldet enkeltvist med snudekontakt til nabogrisen og tilfældigt tildelt en af fem diæter (fem Zn niveauer) i forhold til kropsvægt og køn. Foderet bestod af samme basal foderblanding optimeret jvf. normer for næringsstoffer til grise mellem 9 og 30 kg (inkl. 200% fytase = 1000 fytase enheder/kg) med fem forskellige mængder tilsat ZnO; 0, 30, 60, 120 og 240 ppm. Det analyserede totale Zn indhold i de fem diæter var 80, 92, 117, 189 og 318 ppm Zn. Foderindtag og kropsvægt blev registreret på ugentlig basis, og hvis en gris tabte mere end 15% af sin start kropsvægt (uge 2) blev den aflivet. Fæces blev scoret visuelt dagligt jf. en fire-trins-skala (1 = fast og formligt; 2 = blød og formligt; 3 = udflydende; 4 = vandig), hvor score 3 og 4 blev kategoriseret som diarré og grisene blev observeret for zinkmangel symptomer i form af parakeratose (sår på kroppen). Der blev taget blodprøver til bestemmelse af Zn koncentration i serum i starten af forsøget (uge 2) og i uge 3, 5 og 6 (forsøgsafslutning). Ved forsøgets afslutning blev 10 grise per behandling (n=50 i alt) aflivet og prøver af knogle, lever, pancreas samt mucosa fra tyndtarmen udtaget til analyse af Zn status samt analyse af fordøjelsesenzym aktivitet (kun pancreas).

Resultater

Der blev ikke registreret symptomer på zinkmangel i form af parakeratose. Foderets Zn indhold påvirkede ikke foderoptag, tilvækst og fodereffektivitet. Ligeledes var den relative vægt af pancreas, lever samt aktiviteten af fordøjelsesenzymerne trypsin, chymotrypsin og amylase ikke afhængig af foderets Zn indhold. Serum Zn status var 874 ± 12 µg/L ved forsøgets start uge 2 og faldt 13-24% til uge 3, afhængig af foderets Zn indhold. Grise tildelt 80 og 92 ppm Zn fortsatte

med at have en lavere serum Zn status end ved forsøgsstart også i uge 5 og 6, mens grise tildelt 117, 189 og 318 ppm Zn havde samme serum Zn status i uge 5 og 6 som ved forsøgsstart. En broken-line regression viste, at serum Zn status i uge 5 og 6 nåede et beregnet plateau ved et indhold af Zn i foderet på henholdsvis 126 ± 17 og 102 ± 6 ppm. Det gennemsnitlige daglige foderoptag og den gennemsnitlige daglige tilvækst var positivt korreleret med serum Zn status (henholdsvis $R^2 = 0,34-0,36$ og $R^2 = 0,16$) men der blev ikke opnået et plateau.

Zinkkoncentrationen i knogle var højere ved 189 versus 80 ppm Zn i foderet og et knæk-punkt i knogle Zn status afhængig af foderets indhold af Zn blev beregnet til 137 ± 19 ppm Zn.

Konklusion

Det konkluderes, at behovet for Zn i 10-30 kg grise kan opfyldes ved 80 ppm total Zn i foderet dvs. i dette tilfælde uden tilsat Zn, hvis produktionsresultater som foderoptag, tilvækst og fodereffektivitet udelukkende tages i betragtning. Serum og knogle-indholdet af Zn (Zn status parametre) indikerer dog, at behovet for Zn i 10-30 kg grise ligger omkring 100-140 ppm total Zn i foderet. Det er vigtigt at pointere, at disse konklusioner er opnået i grise tildelt knapt 1500 ppm Zn de første to uger efter fravæning (7-10 kg) baseret på resultater fra forsøg 1.

3.4 Dansk sammendrag af manuskript 4 (forsøg 3)

Slagtegrise kan opretholde produktivitet og serum zink status uden tilsat zink i foderet

Introduktion

I de seneste mange år har der været stor fokus på at minimere landbrugets belastning af miljøet. En af indsatsområderne har været og er, at reducere zinkudskillelsen til landbrugsjord. Zink (Zn) er et tungmetal som ophobes i jorden med potentielt negative effekter på planters vækst, jordens fertilitet og fauna, hvis tilførslen overstiger planternes behov. Selvom slagtesvin udskiller langt mest Zn (se resultater i manuskript 6) har der ikke været fokus på at få belyst zinkbehovet hos 30-100 kg grise. Dette forsøg undersøgte Zn behovet hos 30-100 kg grise, som fik 1400 ppm Zn i foderet de først 2 uger efter fravæning (baseret på resultater fra forsøg 1) og 100 ppm Zn de efter følgende 4 uger (uge 3-6, baseret på resultater fra forsøg 2). Behovet blev bestemt ud fra produktionsresultater (foderindtag, tilvækst og foderudnyttelse), diarrérisiko og Zn koncentration i serum (Zn status parameter). Hypotesen var, at 30-100 kg grise kan få dækket deres Zn behov med det Zn som

kommer fra ingredienserne i foderet (korn, soja osv.).

Materiale og metode

Forsøget inkluderede 90 grise (45 grise/blok, 45 galt-grise og 45 hun-grise) indkøbt fra en produktionsbesætning ved fravæning (28 dage gamle). De første 6 uger gik grisene gruppeopstaldet (8-9 grise/sti) og blev fodret med det samme foder. De første 2 uger indeholdt foderet 1400 ppm Zn og de efterfølgende 4 uger indeholdt foderet 100 ppm Zn. Efter 6 uger havde grisene en gennemsnitsvægt på 27.9 ± 0.5 kg. De efterfølgende 10 uger blev grisene opstaldet enkeltvist med snudekontakt til nabogrisen og tilfældigt tildelt en af tre diæter (tre Zn niveauer) i forhold til kropsvægt og køn. Foderet bestod af samme basal foderblanding optimeret jvf. normer for næringsstoffer til grise mellem 30 og 100 kg (inkl. 200% fytase = 1000 fytaseenheder/kg) med tre forskellige mængder tilsat Zn (zinkoxid; ZnO, Vepidan ApS, Løgstør, Danmark); 0, 40 og 80 ppm. Den forventede totale Zn koncentration i de tre diæter var 30, 70 og 110 ppm. Foderindtag og kropsvægt blev registreret hver anden uge (uge 8, 10, 12, 14 og 16), og hvis en gris tabte mere end 15% af sin start kropsvægt (uge 6) blev den aflivet. En gang om ugen blev frisk fæces scoret visuelt jf. en fire-trins-skala (1 = fast og formligt; 2 = blød og formligt; 3 = udflydende; 4 = vandig), hvor score 3 og 4 blev kategoriseret som diarré og grisene blev observeret/undersøgt for parakeratose (sår på kroppen). Der blev taget blodprøver til bestemmelse af Zn koncentration i serum i starten af forsøget (uge 6) og i slutningen af uge 10 og 16.

Resultater

De tre diæter indeholdt 31, 69 og 102 ppm Zn (analyseret indhold), hvilket svarer godt overens med de forventede Zn indhold. I løbet af forsøget blev 4 grise aflivet pga. skader og sygdom. Der blev ikke registreret symptomer på zinkmangel i form af parakeratose. Der var en tendens til at grise tildelt 102 ppm Zn havde en højere kropsvægt i slutningen af uge 10 i forhold til grise tildelt 31 eller 69 ppm Zn (henholdsvis 56.8, 55.3 og 55.5 kg), men ved forsøgets afslutning vejede grisene det samme (Tabel 1). Der var ingen forskel i foderindtag mellem de tre Zn grupper. Grise tildelt 102 ppm Zn havde 124 gram lavere daglig tilvækst i uge 7-8 i forhold til grise tildelt 69 ppm Zn, og der var en kvadratisk sammenhæng ($P = 0.02$) mellem Zn koncentrationen i foderet og tilvækst i uge 7-8. Den maksimale tilvækst blev beregnet til at kunne opnås ved 59 ppm Zn i foderet. Denne kvadratiske effekt blev ikke observeret i forsøgets øvrige uger. I uge 9-10 havde grise tildelt 102 ppm Zn tendens til en større tilvækst i forhold til grise foderet 31 og 69 ppm zink (henholdsvis

1346, 1254 og 1256 g/d). Der var en tendens til en effekt af Zn niveau i foderet på tilvæksten i uge 11-12, men der var ingen forskel mellem grupperne. I de resterende perioder og samlet set over hele forsøgsperioden var der ingen effekt af foderets Zn indhold på tilvækst (Tabel 1).

Foderudnyttelsen fulgte samme mønster som tilvækst i uge 7-8 og var bedst med 69 ppm Zn i foderet i forhold til 102 ppm Zn (henholdsvis 2.25 og 2.53). I uge 9-10 var foderudnyttelsen bedre med 102 ppm Zn i foderet i forhold til 31 ppm Zn (henholdsvis 1.88 og 2.01). De resterende perioder og samlet set over hele forsøgsperioden uge var der ingen forskel i foderudnyttelsen (Tabel 1). Det daglige Zn indtag steg med øget Zn koncentration i foderet. Gennemsnitligt over de 10 uger havde grise tildelt 31 ppm Zn i foderet 120 og 226% lavere Zn indtag end grise tildelt henholdsvis 69 og 102 ppm Zn (Tabel 1).

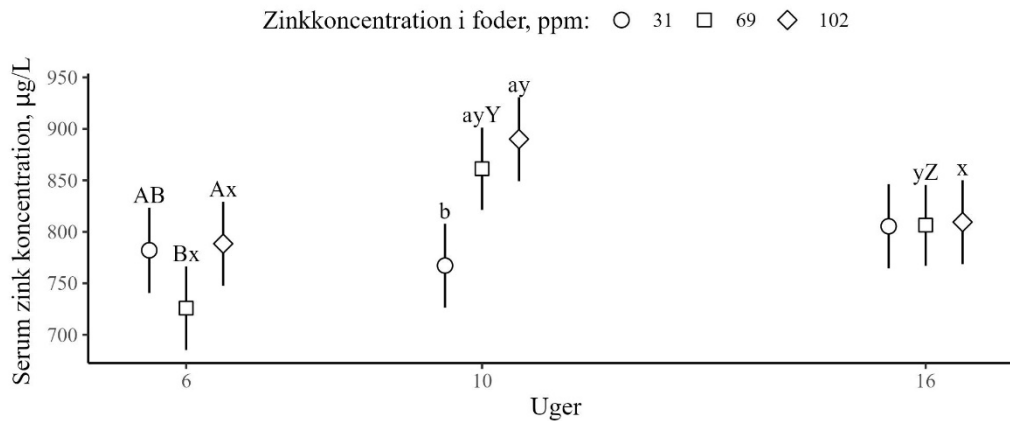
Tabel 1. Effekt af Zn koncentration i foderet på produktivitet samlet over hele forsøgsperioden 6-16 uger efter fravæning (30-100 kg kropsvægt).

Uge	Zn concentration i foder, ppm			SEM	P-værdier		
	31	69	102		Zn	BW ¹	Køn
Kropsvægt, kg							
Uge 6	27.6	28.0	28.0	0.78	0.70	-	0.14
Uge 16	111.1	111.0	111.7	1.90	0.43	<0.01	0.44
Foderindtag, g/d	2794	2805	2801	51	0.92	<0.01	<0.01
Tilvækst, g/d	1183	1190	1201	21	0.77	<0.01	0.21
Foderudnyttelse	2.39	2.36	2.33	0.03	0.20	<0.01	<0.01
Zn indtag, mg/d	88.4 ^c	194.4 ^b	288.5 ^a	3.71	<0.01	<0.01	<0.01

¹BW, kropsvægt. ^{abc} Bogstaver indikerer en statistisk signifikant forskel ($P \leq 0.05$).

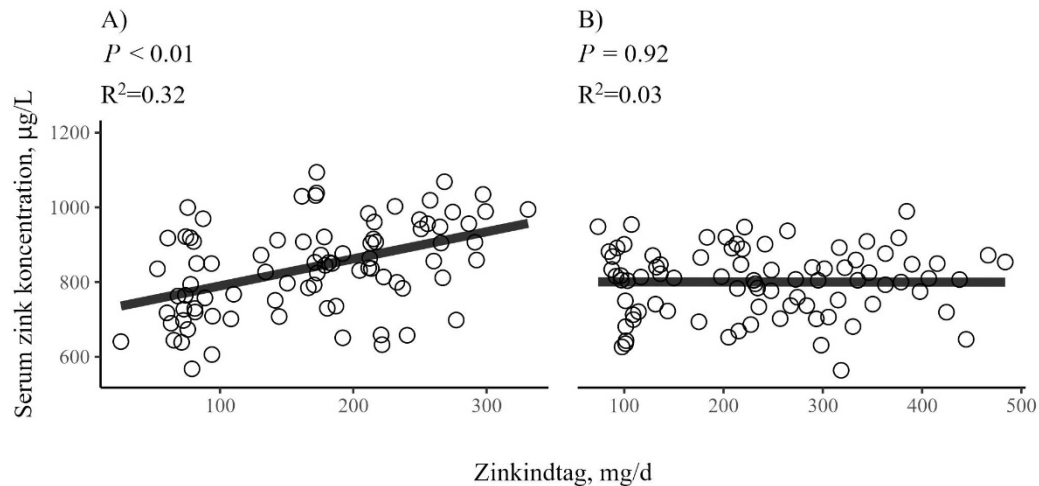
Serum Zn koncentrationen var $769 \pm 37 \mu\text{g/L}$ ved forsøgsstart (uge 7). Der var en signifikant vekselvirkning mellem foderets Zn indhold og tid (Figur 1) på niveauet af Zn i serum. Serum Zn indholdet forblev uændret over tid med 31 ppm Zn i foderet ($785 \pm 14 \mu\text{g/L}$), hvorimod med 69 og 102 ppm Zn i foderet var serum Zn koncentration blevet øget med 102-135 $\mu\text{g/L}$ i uge 10. I uge 16 var serum Zn på et sammenligneligt niveau som i uge 6 for grise foderet med 102 ppm Zn ($809 \pm 21 \mu\text{g/L}$), hvorimod grise som havde fået 69 ppm Zn i foderet stadig havde en højere Zn koncentration i serum i forhold til startniveauet ($861 \pm 20 \mu\text{g/L}$).

P -værdi: Zink \times Uge < 0.01



Figur 1. Serum Zn koncentration over tid (uge 6, 10 og 16) ved 31, 69 og 102 ppm Zn i foderet. ^{ab} Bogstaver indikerer en signifikant forskel ($P \leq 0.05$) mellem diæter på dagen. ^{AB} Bogstaver indikerer en tendens til forskel ($0.05 > P \leq 0.10$) mellem diæter på dagen. ^{xy} Bogstaver indikerer en signifikant forskel ($P \leq 0.05$) mellem uger indenfor diæt. ^{YZ} Bogstaver indikerer en tendens til forskel ($0.05 > P \leq 0.10$) mellem uger indenfor diæt.

Der var ingen signifikant korrelation mellem serum Zn status i uge 10 og foderindtag eller tilvækst i uge 11-12. Det gennemsnitlige daglige Zn indtag i uge 3-4 var korreleret med serum Zn koncentrationen i slutningen af uge 4 ($P < 0.01$, $R^2 = 0.32$), men Zn indtaget i uge 9-10 havde ingen korrelation til serum Zn koncentrationen i slutningen af forsøget (uge 10, Figur 2). Der var signifikant lavere sandsynlighed for diarré i den første uge (uge 7) med 31 ppm Zn i foderet sammenlignet med 102 ppm Zn (henholdsvis 0.05 og 0.36), men samlet set over hele perioden fra 30-100 kg var sandsynligheden for diarré den samme uanset foderets Zn koncentration.



Figur 2. Sammenhængen mellem A) zinkindtaget i uge 9-10 og serum zinkkoncentrationen i uge 10, og B) zinkindtaget i uge 15-16 og serum zinkkoncentrationen i uge 16.

Konklusion

Det konkluderes, at produktionsresultaterne for 30-100 kg grise ikke påvirkes af tilsætning af Zn til foderet og grisene klarer sig således udmærket uden tilsat Zn til foderet under de givne forudsætninger. På trods af, at Zn indtaget blev øget med over 200% ved at øge Zn indholdet i foderet fra 31 til 102 ppm, var der ingen varig effekt på serum Zn status. Eftersom 31 ppm Zn i foderet kunne fastholde serum Zn koncentration gennem forsøget, indikerer det, at Zn behovet var opfyldt. Endvidere var der ingen effekt på diarré forekomst på nær i den første uge. Disse resultater blev opnået for grise som havde fået 1400 ppm Zn i foderet de første to uger efter fravæning og 100 ppm Zn de efterfølgende fire, hvilket kan have betydning for resultaterne.

3.5 Dansk sammendrag af manuskript 5 (forsøg 3)

Effekt af foderets zink indhold på Escherichia coli inficerede ny-fravænnede grise

Introduktion

Studier med mus og kyllinger har vist, at Zn behovet ændrer sig når dyr bliver udfordret af en infektion, bl.a. fordi der sker mobilisering af Zn fra blodet til forskellige immunologiske organer, særligt leveren. Behovet for Zn i foderet blev bestemt til 1400 ppm i ny-fravænnede grise i forsøg 1, men dette forsøg var udført under gode sanitære forhold hvor grisene blev eksponeret for

minimalt sygdomspres. Hypotesen i dette forsøg var, at grise udsat for *E. coli* infektion har større behov for Zn end grise som ikke udsættes for *E. coli* infektion.

Materiale og metode

Forsøget inkluderede 72 ny-fravænnede grise (28 dage gamle; 6.71 ± 0.28 kg) indkøbt fra en produktionsbesætning, som kom fra søer testet positiv for modtagelighed for Escherichia coli (*E. coli*) F18. Grisene blev ved ankomst på fravænningsdagen (dag 0) fordelt ud fra kropsvægt, på en af tre diæter med enten 150, 1400 eller 2500 ppm Zn. Hver sti havde to grise fra forskellige kuld på samme behandling, og grise havde ikke fysisk kontakt til grise i andre stier. Halvdelen af grisene blev inokuleret med *E. coli* de to første dage efter fravæning, og de var adskilt fra kontrolgrisene som blev inokuleret med saltvand. Grise (individuel) og foderrester (på stiniveau = 2 dyr) blev vejet dag 3, 5, 7 og 14 efter fravæning, og de samme dage blev der taget fæces- og blodprøver. Fæces blev scoret dagligt på en fire-trins-skala (1 = fast og formligt; 2 = blød og formligt; 3 = udflydende; 4 = vandig), hvor score 3 og 4 blev kategoriseret som diarré.

Resultater

Foderindtag og tilvækst dag 3-5 var reduceret som følge af *E. coli* inokulering. Derudover var foderindtag og tilvækst dag 3-5 også reduceret ved 150 ppm Zn i forhold til 1400 ppm Zn i foderet. Mellem dag 5 og 7 var der ingen effekt af *E. coli* inokulering på foderindtag, men 150 ppm Zn i foderet resulterede fortsat i et lavere foderindtag i forhold til 1400 ppm Zn. Tilvæksten viste i denne periode (dag 5-7) også tendens til at være reduceret på grund af *E. coli* inokulering, men kun ved 150 ppm Zn i foderet. Samlet set havde tilvæksten den første uge efter fravæning en tendens til at være reduceret som følge af *E. coli* inokulering og som følge af 150 i forhold til 1400 ppm Zn i foderet. *E. coli* inokulering resulterede i mere vandig afføring på dag 5, men kun i kombination med 150 ppm Zn i foderet. Risikoen for diarré var også større samlet set for den første uge efter fravæning hos grise som var inokuleret med *E. coli* samt tildelt foder med 150 ppm Zn. De *E. coli* inokulerede grise tildelt 150 ppm Zn havde ligeledes større udskillelse af *E. coli* bakterier og toksiner i fæces dag 3, 5 og 7.

Der var ingen forskel i koncentrationen af akutfaseproteiner i blod som resultat af *E. coli* inokulering. Dog var koncentrationen af haptoglobin forhøjet på dag 14 hos *E. coli* udfordrede grise tildelt 150 ppm Zn, hvorimod de andre gruppers haptoglobin niveau var tilsvarende dag 0 inden inokulering. Koncentrationen af C-reaktivt protein steg for grise tildelt 150 ppm Zn hvorimod 1400

og 2500 ppm Zn i foderet ikke resulterede i ændringer i C-reaktivt protein over tid.

Serum Zn status var ved fravæning 586 ± 36.6 µg/L. *E. coli* inokulering reducerede serum Zn hos grise som fik 2500 ppm Zn, mens der ingen effekt var ved 150 og 1400 ppm Zn i foderet. Det resulterede i, at inficerede grise havde sammenlignelige serum Zn niveauer på dag 5 og 7. Serum Zn koncentration var ens igennem forsøget for grise foderet med 150 ppm Zn, mens den steg med 1400 og 2500 ppm Zn.

Konklusion

Infektion kombineret med et Zn indhold på 150 ppm i foderet reducerede foderindtaget og tilvæksten de første par dage efter inokulering. Tilsvarende var risikoen for diarré og udskillelse af *E. coli* bakterier større for udfordrede grise tildelt 150 ppm Zn. Der var minimal effekt på akutfaseproteiner, hvilket tyder på at infektionen ikke var kraftig nok til at give et systemisk respons. Serum Zn status var påvirket af *E. coli* inokulering, men kun hos grise som fik 2500 ppm Zn. Resultaterne indikerer således, at nyfravænnede grise tildelt 150 ppm Zn i foderet er mere negativt påvirket af en *E. coli* inokulering i forhold til grise tildelt 1400 eller 2500 ppm Zn. Der var dog overordnet ingen yderligere gavnlige effekt af at tildele 2500 fremfor 1400 ppm Zn til *E. coli* inokulerede grise.

3.5 Dansk sammendrag af manuskript 6 (meta-analyse af litteratur data)

Sammenhæng mellem zinkindtag, foderets zink indhold og zinkudskillelse

Introduktion

Overskydende zink (Zn) i foderet som ikke absorberes udskilles primært via fæces og gylle til det omgivende miljø. Formålet med denne metaanalyse var at belyse de matematiske sammenhænge mellem Zn koncentrationen i foderet, Zn indtaget og Zn udskillelsen hos fravænnede grise, samt at belyse og beregne Zn udskillelsen i forskellige vækstfaser af grisens liv i tre scenarier med forskellig Zn koncentration er i foderet.

Materiale og Metode

Til arbejdet med at udvikle en matematisk model for sammenhængen mellem Zn indtag og Zn udskillelse, blev der samlet data fra 10 publicerede artikler som rapporterede forsøg med

nyfravænnede grise og hvor Zn indtag og Zn udskillelse var blevet registreret de første seks uger efter fravæning (metaanalyse af tidligere publiceret data). Modellen inkluderede den anvendte Zn kilde i studierne som hhv. organisk, uorganisk eller naturligt forekommende i foderet (intet tilsat). Til udviklingen af en matematisk model for sammenhængen mellem foderets Zn indhold og Zn indtag, blev data fra forsøg 1 med nyfravænnede grise og seks Zn koncentrationer i foderet anvendt. Det blev desuden beregnet hvad Zn udskillelsen i forskellige vækstfaser (6-9, 9-28 og 28-108 kg) var ved forskellige Zn koncentrationer i foderet ved hjælp af at opdatere en publiceret model med forudsætninger angående nutidens danske grises produktivitetsniveau. Der blev lavet tre scenarier for foderets Zn indhold gennem en gris' liv (3 forskellige vækststadier; 6-9, 9-28 og 28-108 kg): A) Praksis inden Juni 2022, hvor der typisk blev anvendt såkaldt farmakologiske niveauer af Zn de første 14 dage efter fravæning (2500, 150, 100 ppm Zn), B) egne "afrundede" eksperimentelt bestemte optimale Zn koncentrationer i foderet til at dække Zn behov (1400, 100, 50 ppm Zn) og C) nuværende maksimale Zn koncentrationer jf. gældende EU lovgivning (150, 150, 100 ppm Zn).

Resultater

Zinkudskillelsen hos nyfravænnede grise op til seks uger efter fravæning var jf. metaanalysen ikke påvirket af Zn kilden (organisk, uorganisk eller naturligt forekommende i), men Zn udskillelse var positivt korreleret med Zn indtag ($P < 0.01$). Tilsvarende var nyfravænnede grises' Zn indtag afhængig af Zn indholdet i foderet ($P < 0.01$). Ud fra de to modeller, ville Zn udskillelsen de første to uger efter fravæning blive reduceret med 36 og 94% ved at reducere fravænningsfoderets Zn indhold fra 2500 til 1400 eller 150 ppm (henholdsvis en Zn udskillelse på 7,5, 4,8 og 0,5 g/grise). Den samlede Zn udskillelse per gris i scenarie A (2500, 150, 100 ppm tildelt mellem hhv. 6-9, 9-28 og 28-108 kg) Zn var beregnet til at være 31 g fra fravæning til slagt, hvor 59% af Zn mængden stammede fra 28-109 kg grisene. Ved udelukkende at reducere Zn indholdet i fravænningsfoderet de første to uger fra 2500 til 150 ppm blev den totale beregnede Zn udskillelse per gris fra fravæning til slagt reduceret med 26% (scenarie A sammenlignet med scenarie C). Til sammenligning var effekten en 49% mindre Zn udskillelse fra fravæning til slagt ved at optimere samtlige diæters Zn indhold jf. resultaterne af vores egne forsøg 1, 2 og 3 (scenarie A sammenlignet med scenarie B).

Konklusion

Zinkudskillelse i fravænningsperioden kan således reduceres ved at reducere Zn indholdet i fravænningsfoderet, men samlet set har det mindre betydning på den samlede Zn udskillelse fra fravæning til slagt, da der er langt større Zn udskillelse fra slagtegrise (28-108 kg). Det betyder, at man vil kunne opnå en endnu større reduktion i Zn udskillelsen ved at reducere Zn indholdet i foderet til slagtegrise fra 100 til 50 ppm, og det selvom man tildelte nyfravænnede grise 1400 ppm de første 2 uger efter fravæning jf. det optimale niveau, som var resultatet af forsøg 1.

4. Recommendations

Based on the outcomes of the four experimental studies and content of the six scientific manuscripts, the following recommendations for total feed Zn content during different growth intervals in pigs can be provided:

- | | |
|---|---|
| 1) Newly weaned 0-2 weeks post-weaning: | 1400 ppm Zn |
| 2) 10-30 kg pigs: | 100 ppm Zn |
| 3) 30-100 kg pigs: | no need for added Zn in the feed (50 ppm) |

The recommendation in 2) assumes that the pigs have been provided the in 1) shown levels of dietary Zn from 0-14 days after weaning and the indicated Zn recommendation in 3) assumes that pigs have been provided the in 1) and 2) indicated Zn levels prior to being 30 kg of body weight.

Based on blood metabolomic and faecal microbial composition, a dietary level of 1400 ppm to newly weaned pigs does not seem to exhibit other effects than as a nutrient. The newly weaned pig's ability to cope with an *E. coli* infection was reduced when Zn was provided in the currently allowed dietary level (150 ppm) compared to 1400 and 2500 ppm.