



Støttet af:



XYLANASE HAR INGEN EFFEKT PÅ NEDBRYDNINGEN AF FIBRE VED FERMENTERING AF HVEDE

ERFARING NR. 1507

Tilsætning af xylanase til fermenteret hvede påvirker ikke profilen af organiske syrer eller nedbrydning af fibre. Xylanase bevarer sin aktivitet efter 16 timers fermentering.

INSTITUTION: VIDENCENTER FOR SVINEPRODUKTION, DEN RULLENDE AFPRØVNING

FORFATTER: **DORTHE K. RASMUSSEN**

MARIE LYBYE ANDERSSON

TRINE FRIIS PEDERSEN

UDGIVET: 9. JULI 2015

Dyregruppe: Smågrise og slagtesvin

Fagområde: Ernæring

Sammendrag

Forsøget viste, at xylanase ikke havde nogen effekt på nedbrydning af NSP (ikke-stivelse polysakkarider, fibre) og profilen af organiske syrer i fermenteret hvede.

Fermentering af hvede øgede koncentrationen af eddikesyre og mælkesyre, samtidig med at pH faldt. Der var ingen forskel i koncentrationen af de organiske syrer, uanset om der var tilsat xylanase under fermenteringen eller ej.

Fermentering i 8-16 timer medførte større andel af partikler under 1 mm sammenlignet med fordelingen i det tørre hvede. Tilsætning af xylanase havde ingen effekt på partikelfordelingen.

Der var fuld genfinding af xylanase efter fermentering, så det forventes, at xylanasen stadig er aktiv i grisen. Derfor forventes samme effekt af xylanase i vådfoder og tørfoder.

Forsøget blev gennemført med to grupper: en gruppe med fermenteret hvede uden xylanase og en gruppe med fermenteret hvede tilsat Danisco Xylanase (4000 U pr. kg korn). Formalet hvede blev blandet med vand i forholdet 1:2,75, og sat til at fermentere. Der blev målt enzymaktivitet, NSP og koncentration af eddikesyre og mælkesyre efter 4, 8 og 16 timers fermentering med og uden xylanase. Partikelfordelingen i det fermenterede hvede blev ligeledes målt efter 8 og 16 timers fermentering med og uden xylanase.

Baggrund

Brug af kulhydratspaltende enzymer har især været undersøgt i tørfoder. Ved tørfodring aktiveres enzymerne af væske, pH- og temperaturforhold, når grisen indtager foderet. Xylanase er optimeret til forholdene i grisens mave-tarm-kanal og har sin virkning der.

Ved vådfodring blandes råvarer med vand, og over længere tid sker der en fermentering. Derved kan naturligt forekommende enzymer produceret af mikroorganismer under fermenteringen blive aktiveret [10]. Tidligere forsøg med fermentering af korn har vist, at fermentering reducerede koncentrationen af total NSP (ikke-stivelse polysakkarider, fibre) [1], [2]. Det tyder på, at de dannede enzymer fra mikroorganismene ved fermentering af kornet havde nedbrudt NSP til mindre kulhydratfraktioner, som sandsynligvis var nemmere at fordøje. Afprøvninger af foder med fermenteret korn til slagtesvin og smågrise har ligeledes vist, at der var en forbedret foderudnyttelse sammenlignet med foder med korn, der ikke blev fermenteret [3], [4].

Det er muligt, at man kan optimere udbyttet af fermenteringsprocessen yderligere ved at tilsætte xylanase. Danske forsøg med smågrise og slagtesvin har vist en effekt på 0-3 % forbedret foderudnyttelse ved tilsætning af xylanase [5], [6], [7], [10], [11], [12]. Fermentering af korn samtidig med tilsætning af xylanase kan muligvis give grisen endnu større adgang til næringsstofferne i kornet, idet det tilsatte xylanase vil kunne øge nedbrydningen af NSP i kornet.

Under fermenteringen vil der samtidig være gode betingelser for xylanase med hensyn til fugtighed og substrattilgængelighed. Ved fermentering vil temperaturen være omkring stuetemperatur og pH vil ligge på 3,5-4 [3]. Temperatur og pH ligger under det optimale område for optimal virkning af Danisco Xylanase. Der vil dog stadig være aktivitet af xylanasen ved den pågældende temperatur og pH under fermentering, men aktiviteten vil være lavere, end den er i grisens mave-tarm-kanal. I grisen vil

kulhydrater blive nedbrudt i den forreste del af tyndtarmen (duodenum), hvor pH er på cirka 5 og temperaturen er 37 °C, hvilket er mere optimalt for xylanase.

Formålet med afprøvningen var at teste effekten af fermentering og tilsætning af xylanase på nedbrydningen af NSP i hvede, samt klarlægge om varighed af fermentering har en effekt på enzymets aktivitet.

Materiale og metode

Afprøvningen blev gennemført på Forskningscenter Foulum, Aarhus Universitet. Der indgik to grupper i afprøvningen, se tabel 1. Gruppe 1 og 2 bestod af fermenteret hvede, som var henholdsvis uden og med Danisco Xylanase (4000 U pr. kg korn).

I afprøvningen blev der anvendt 16 fermentorer (fermenteringsbeholdere), således at der var otte fermentorer for henholdsvis gruppe 1 og 2 i hver gentagelse. Forsøget blev gentaget to gange, det vil sige i alt 16 fermentorer pr. gruppe. Hveden blev formalet, hvorefter det formalede hvede blev blandet med vand i forholdet 1:2,75, og sat til at fermentere. Der blev ikke tilsat podkultur til blandingen. Fermenteringsbeholderens samlede volumen var på én liter.

Ved opstart af fermenteringsbeholderne blev der blandet 160 g hvede og 440 ml vand for gruppe 1. I gruppe 2 blev der tilsat 1,3 g xylanase, 158,7 g hvede og 440 ml vand. Derefter blev 75 % af indholdet i fermenteringsbeholderen udskiftet med formalet hvede og vand samt enzym i blandingen til gruppe 2 to gange dagligt på dag 1, 2, 5 og 6 - kl. 8:00 og kl. 16:00 og en gang dagligt på dag 3, 4 - kl. 8:00. Der var en restmængde på 25 % hver gang for at efterligne vådfodring i praksis så meget som muligt. Ved hver udskiftning af 75 % af blandingen i hver fermenteringsbeholder blev der iblandet 120 g hvede og 330 ml vand for gruppe 1, og 1 g enzympulver, 119 g hvede og 330 ml vand for gruppe 2.

Inkubationstemperaturen var på 20 °C. pH og temperatur blev målt på dag 7 efter iblanding af nyt korn samt efter 4, 8 og 16 timers fermentering. Temperaturen svarer til fermenteret korn.

På 7. dagen blev der for både gruppen med og uden xylanase udtaget prøver til analyse af opløselig og uopløselig NSP, tørstofprocent samt koncentration af flygtige fedtsyrer (VFA) og mælkesyre efter 4, 8 og 16 timers fermentering (tabel 1). Tørstofprocent og NSP blev derudover målt i tør hvede. Der blev ligeledes udtaget prøver af det fermenterede hvede til måling af enzymaktiviteten på dag 7 lige efter iblanding af nyt korn og efter 4, 8 og 16 timers fermentering.

Der blev udtaget fire prøver af den formalede hvede samt otte prøver af det fermenterede hvede efter henholdsvis 8 og 16 timers fermentering med og uden xylanase efter TOS-principperne [8] til bestemmelse af partikelfordelingen via vådsigtning i et elektronisk sigteapparat (Retsch AS 200 Control Sieve Shaker). Ved vådsigtning blev fraktionerne vejret, hvorefter den procentvise fordeling af

partikelstørrelsen blev beregnet. Ved vådsigtning af det tørre hvede, blev det formalede korn oplødt i vand i cirka en time inden sigtning, hvilket ikke var tilfældet for det fermenterede hvede. Sigtingen blev foretaget under vandgennemstrømning i sigten. Fraktionerne blev derefter tørret i varmeskab ved 105 °C i to døgn, inden de blev vejede.

Tabel 1. Beskrivelse af forsøgsdesign og analyser

Gruppe	Fermenteret hvede	
	1	2
Xylanase	Nej	Ja ¹
Udtagning til analyser [timer]		
0	pH, temperatur	Enzymaktivitet, pH, temperatur
4	VFA + mælkesyre, NSP, tørstof, pH, temperatur	Enzymaktivitet, VFA + mælkesyre, NSP, tørstof, pH, temperatur
8	VFA + mælkesyre, NSP, tørstof, pH, temperatur	Enzymaktivitet, VFA + mælkesyre, NSP, tørstof pH, temperatur
16	VFA + mælkesyre, NSP, tørstof, pH, temperatur	Enzymaktivitet, VFA + mælkesyre, NSP, tørstof pH, temperatur

¹Tilsat 8,33 kg xylanase pr. ton korn, svarende til en enzymaktivitet på 4.000 U pr. kg korn

Der blev ikke foretaget statistiske analyser af resultaterne.

Resultater og diskussion

Enzymaktivitet

Enzymaktiviteten var konstant over tid fra 0 til 8 timer efter fermentering (tabel 2). Det var et mindre fald i enzymaktivitet efter 16 timers fermentering, som sandsynligvis kan tilskrives analyseusikkerhed ved analyse af xylanase. Enzymaktiviteten var generelt under den garanterede minimumsaktivitet på 4.000 U pr. kg korn. Danisco har dog tidligere oplyst, at de forventer, at de forventer, at xylanasen er aktiv ved en aktivitet over 1.500 U pr. kg, som alle enzymaktiviteterne var over. Xylanasen var stadig aktiv efter 16 timer og har derfor stadig mulighed for at virke i grise, der tildes vådfoder med xylanase.

Tabel 2. Aktiviteten af xylanase efter 0, 4, 8 og 16 timers fermentering

Timers fermentering	Enzymaktivitet, U pr. kg tørstof
0	3671
4	3605
8	3580
16	3125

Mikrobiologi

I fermenteret korn faldt pH-værdien som forventet over tid fra pH 5 til 4, og der blev set det samme fald, uanset om der var blevet tilsat xylanase til kornet eller ej. Det største fald i pH blev set de første

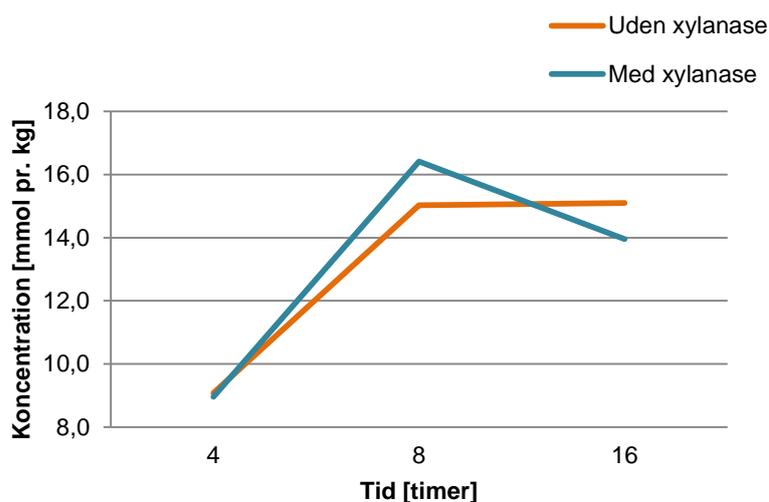
fire timer. Temperaturen i fermenteret korn steg fra 18,4 °C til 21,5 °C. Den optimale temperatur for at opnå en stabil fermentering er 20-21 °C [1].

Eddikesyrekoncentrationen steg fra 4 til 8 timer for derefter at nå et stabilt niveau (figur 1). Ved en molvægt på 60 for eddikesyre svarer 10-15 mmol til 0,6-0,9 g eddikesyre pr. kg fermenteret hvede eller cirka 2,6-3,9 g pr. kg hvedetørstof. Koncentrationerne efter 16 timers fermentering var på samme niveau, som der blev set i et tidligere forsøg efter lige så lang tids fermentering [2]. Myresyre, propionsyre, iso-smørsyre, smørsyre, iso-valeriansyre, valeriansyre og ravsyre var under detektionsgrænsen efter både 4, 8 og 16 timers fermentering.

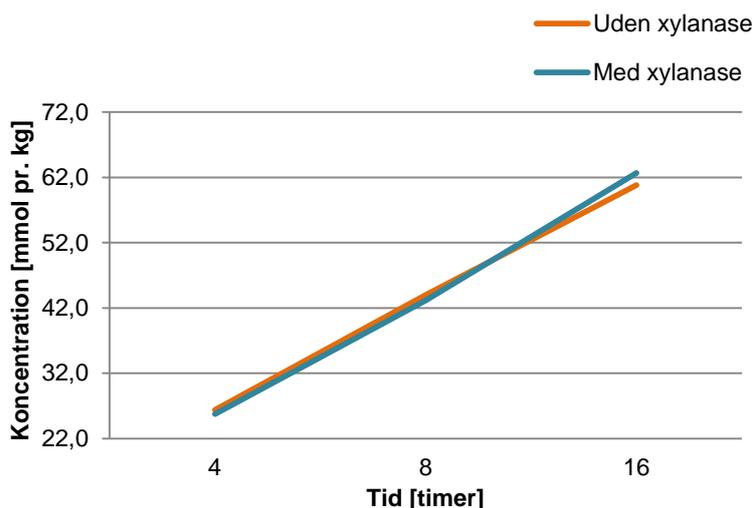
Mælkesyrekoncentrationen steg lineært fra 4 til 16 timer (figur 2). Ved en molvægt på 90 for mælkesyre svarer 30-60 mmol til 2,7-5,4 g mælkesyre pr. kg fermenteret hvede eller cirka 11,7-23,5 g mælkesyre pr. kg hvedetørstof. Koncentrationen af mælkesyre efter 16 timers fermentering var ligeledes sammenlignelige med et tidligere forsøg med samme varighed af fermenteringen [2]. Derved er den mikrobiologiske aktivitet på niveau med tidligere forsøg.

Indholdet af både eddikesyre og mælkesyre var ens, uanset om der var tilsat xylanase til kornet eller ej. Koncentrationen af myresyre, iso-smørsyre, smørsyre, iso-valeriansyre, valeriansyre og ravsyre var under detektionsgrænsen og er derfor ikke vist.

Den stigende koncentration af eddikesyre og mælkesyre er i overensstemmelse med faldet i pH over tid. Faldet i pH var aftagende efter 8 timers fermentering og det samme var stigningerne i koncentrationen af eddikesyre, hvilket kunne være medvirkende til, at pH stabiliserer sig mere omkring pH 4.



Figur 1. Koncentrationen af eddikesyre efter 4, 8 og 16 timer med og uden tilsat xylanase



Figur 2. Koncentrationen af mælkesyre efter 4, 8 og 16 timer med og uden tilsat xylanase

Fermentering af hvede reducerede mod forventning ikke koncentrationen af total NSP, idet NSP i procent af tørstof ikke ændrede sig over tid (tabel 3). Tidligere forsøg har vist, at fermentering af korn reducerede koncentrationen af total NSP [1], [2]. Fordelingen af opløselige og uopløselige NSP ændrede sig heller ikke nævneværdigt under fermenteringen, men dog med en lille stigning af opløselige NSP og et fald i uopløselige NSP over tid. I tidligere forsøg blev der set et fald i både opløselige og uopløselige NSP [1], [2]. Det er muligt, at fermenteringsforholdene i det aktuelle forsøg ikke har været optimale til at nedbryde NSP. Der blev ikke tilført en starterkultur som fx vådfoder fra besætninger til fermenteringsbeholderne, så det er kun de mikroorganismer, som naturligt forekommer i korn, som var til stede. Forholdene i fermenteringsbeholderne har derfor ikke helt svaret til forholdene i vådfoder i besætninger. Der har dog været mikrobiel nedbrydning under fermenteringen, idet pH som forventet faldt, mens koncentrationen af eddikesyre og mælkesyre blev forøget.

Der var ingen forskel i total NSP, uanset om der var tilsat xylanase eller ej til den fermenterede hvede. Et tidligere forsøg har vist, at ved tilsætning af en enzymblending indeholdende β -glucanase, xylanase og pectinase under fermenteringen af rapskage og tørrede bærme, blev total NSP reduceret [14]. Det blev ikke set i dette forsøg og kunne skyldes, at der her kun var tilsat xylanase under fermenteringen. Det er muligt, at xylanases manglende effekt på nedbrydning af NSP skyldtes, at enzymet er tilpasset grisens mave-tarm-kanal og ikke de forhold, der er under fermenteringen (cirka 20 °C og pH 4). Det optimale område for virkning af Danisco Xylanase, som blev brugt i dette forsøg, er ved en højere temperatur og pH end forholdene i fermenteringsbeholderen. Det kan derfor forventes, at xylanases nedbrydning af NSP vil være lavere under fermenteringen end i grisens mave-tarm-kanal.

Tabel 3. Procentfordelingen (% af tørstof) af opløselige, uopløselige og total NSP efter henholdsvis 4, 8 og 16 timers fermentering af med og uden tilsat xylanase

Xylanase	4 timer		8 timer		16 timer	
	Ja	Nej	Ja	Nej	Ja	Nej
Opløselige NSP	2,35	2,35	2,59	2,54	3,33	3,34
Uopløselige NSP	8,20	8,21	7,98	7,89	7,38	7,56
Total NSP	10,55	10,55	10,57	10,43	10,71	10,90

Sigteprofil

Partikelfordelingen for tør hvede og fermenteret hvede er angivet i tabel 4. Som det fremgår af tabellen, blev kornet yderligere findelt ved fermentering i forhold til det tørre formalede hvede, hvilket stemmer godt overens med et tidligere forsøg [7], [12]. 94-95 % af fermenteret hvede havde en partikelstørrelse under 1 mm, mens 83 % af ikke-fermenteret korn var under 1 mm. Det var hele fraktionen over 1 mm, som blev mere findelt ved fermentering.

Partikelfordelingen blev ikke ændret af yderligere fermentering fra 8 til 16 timer. Det er muligt, at der er et maksimum for, hvor fintdelt kornet kan blive ved fermentering ved den anvendte formaling.

Tilsætning af xylanase havde ingen effekt på partikelfordelingen.

Tabel 4. Partikelfordeling i % for formalet hvede før fermentering og efter 8 og 16 timer, med og uden xylanase

	Tør hvede	Fermenteret hvede			
	0 timer	8 timer		16 timer	
Xylanase	Nej	Ja	Nej	Ja	Nej
> 3 mm [%]	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2-3 mm [%]	3,2	0,8	0,8	0,6	0,4
1-2 mm [%]	13,8	4,8	4,9	4,2	4,9
< 1 mm [%]	83,0	94,4	94,3	95,2	94,7

Konklusion

Sammenfattende kan det konkluderes, at xylanase ikke havde nogen effekt på profilen af organiske syrer eller nedbrydning af NSP i det fermenterede hvede. Der var fuld genfinding af xylanase efter fermentering, så det forventes, at xylanasen stadig er aktiv i grisen. Derfor forventes samme effekt af xylanase i vådfoder og tørfoder.

Referencer

[1]	Pedersen, A.Ø.; Canibe, N.; Damgaard, H.P.; Bach Knudsen, K.E. (2009): Fermenteret korn til FRATS-grise. Meddelelse nr. 844, Dansk Svineproduktion.
[2]	Pedersen, A.Ø.; Jørgensen, H.; Bach Knudsen, K.E.; Canibe, N.; Damgaard, H.P. (2010): Fermentering af korn øger fordøjeligheden af næringsstoffer. Meddelelse nr. 873, Videncenter Svineproduktion.
[3]	Pedersen, A. Ø.; Maribo, H.; Jensen, B. B.; Hansen, I. D.; Aaslyng, M. D. (2002): Fermenteret korn i vådfoder til tungsvin. Meddelelse nr. 547, Landsudvalget for Svin.
[4]	Pedersen, A. Ø. (2006): Fermenteret korn til smågrise. Meddelelse nr. 728, Landsudvalget for Svin.
[5]	Hansen, S. (2011): Ronozyme WX og Porzyme 9302 til slagtesvin. Meddelelse nr. 892, Videncenter for Svineproduktion.
[6]	Callesen, J. (1998): Porzyme 9300 til slagtesvin. Meddelelse nr. 403, Landsudvalget for Svin.
[7]	Hansen, C. F., Kjærsgård, H., Knudsen, K.E.B. og Jensen, B. B. (2002): Effekt af melfoder og Porzyme 9300 på Salmonella, mave-tarm-sundhed og produktivitet hos slagtesvin. Meddelelse nr. 558, Landsudvalget for Svin.
[8]	Pedersen, A. Ø.; Canibe, N. (2011): Fermentering af korn giver en lille stigning i energiværdi. Meddelelse nr. 895, Videncenter Svineproduktion.
[9]	Jørgensen, L. (2011): Udtagning af foderprøver. Videncenter for Svineproduktion
[10]	Rasmussen, D. K. (2008): Bergazym P i hjemmeblandet foder. Meddelelse nr. 826. Dansk Svineproduktion.
[11]	Hansen, S.; Rasmussen, D. K. (2009): Afprøvning af Ronozyme WX til slagtesvin. Meddelelse nr. 848. Dansk Svineproduktion.
[12]	Rasmussen, D. K.; Lybye, M.; Jørgensen, L. (2012): Fin formaling og BS3 xylanase forbedrer produktiviteten. Meddelelse nr. 952, Videncenter for Svineproduktion.
[13]	Rezaei, K.; Jenab, E.; Temelli, F. (2007): Effects of water on enzyme performance with an emphasis on the reactions in supercritical fluidt. Crit. Rev. Biotechnol. 27(4): 183-195.
[14]	Jakobsen, G.V. (2014): Improving nutritional value of pig diets containing local crops and co-products by fermentation and enzyme addition. PhD theses, Department of animal science, Aarhus University.
[15]	Rasmussen, D.K. (2013). Fin formaling af korn i vådfoder forbedrer produktiviteten. Meddelelse nr. 981. Videncenter for Svineproduktion.

Deltagere

Nuria Canibe og Knud Erik Bach Knudsen, Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet

Afprøvning nr. 1176

Aktivitetsnr.: 051-400830

GUDP Journalnr.: 3405-10-0098

//LJ//

VIDENCENTER FOR SVINEPRODUKTION

Tlf.: 33 39 45 00

Fax: 33 11 25 45

vsp-info@seges.dk



Ophavsretten tilhører Videncenter for Svineproduktion. 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.

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