

3 GEZONDHEID EN FUNCTIONELE KENMERKEN VAN DE DUNNE DARM VAN VARKENS GEVOERD MET ORGANISCHE ZUREN

Z. Mroz en J. van der Meulen

Instituut voor Dierhouderij en Diergezondheid (ID-DLO), Lelystad

3.1 Samenvatting

Meestal, maar niet altijd, resulteert toevoeging van organische zuren aan voeders als alternatief voor het gebruik van profylactische doses antibiotica in drie voordelen: 1) betere verteerbaarheid van nutriënten en groei van gespeende biggen en mestvarkens, 2) verbetering van de voederefficiëntie en 3) betere dunne darm gezondheid en mucosale/systemische weerstand. Het is algemeen bekend dat organische zuren antibacteriële eigenschappen hebben. Er zijn aanwijzingen dat organische zuren de morfologie van het maagdarmkanaal kunnen beïnvloeden waardoor de absorptiecapaciteit toeneemt. Dit effect is dosis afhankelijk en verschilt van zuur tot zuur (boterzuur > propionzuur > azijnzuur). Toevoeging van overmatige hoeveelheden organische zuren kan echter leiden tot maagzweren en een geringe metabole acidose. In ratten is gevonden dat zouten van vluchtige vetzuren de niet-specifieke immuniteit en dus de barrière functie van de darmwand verbetert, maar met betrekking tot het varken zijn hierover geen gegevens beschikbaar. Effectieve toepassing van organische zuren in rantsoenen voor biggen, mestvarkens en zeugen vereist meer fundamentele onderzoek, zowel *in vitro* als *in vivo* met als doel een meer specifieke beoordeling van darmstructuur, permeabiliteit, epitheliale celgroei en functionele kenmerken (enzymsecretie, maaglediging, passagesnelheid en mucosale immuniteit). Het effect van organische zuren op specifieke soorten bacteriën in maag en dunne darm is niet bekend hetgeen het ontbreken van een uniforme respons op toevoeging van organische zuren gedeeltelijk verklaart. In ons recent gestarte onderzoek wordt het effect van verschillende organische zuren op de overleving van een vertegenwoordiger van de negatieve darmflora (*E. coli*) en een vertegenwoordiger van de positieve darmflora (*Lactobacillus*) *in vitro* onderzoeken bij een pH die representatief is voor de maag en een pH die representatief is voor de dunne darm van (pas gespeende) biggen.

3.2 Inleiding

Om infecties van het maagdarmkanaal te voorkomen bevatten biggenvoeders gewoonlijk antibiotica in profylactische hoeveelheden. De Nederlandse Commissie Antimicrobiële Groeibevorderaars van de Gezondheidsraad heeft echter onlangs gewezen op de noodzaak van een kritische evaluatie van het preventieve gebruik van antibiotica in diervoeders om de ontwikkeling van bacteriële resistentie te voorkomen en vier groeibevorderaars (zinkbacitracine, virginiamycine, tylosine en spiramycine) gaan per 1 juli dit jaar in de ban. In dit opzicht worden vluchtige vetzuren (VVZ), zoals azijnzuur, propionzuur en boterzuur en andere organische zuren zoals melkzuur, mierenzuur, sorbinezuur, fumaarzuur, appelzuur, wijnsteenzuur en citroenzuur beschouwd als natuurlijke en veilige alternatieven voor antibiotica. Zonder toevoeging van organische zuren aan het voer, worden in het darmlumen van varkens met name VVZ en melkzuur uit fermenteerbare voerbestanddelen en endogene secreties geproduceerd. Toevoeging van organische zuren zou moeten resulteren in drie voordelen: 1) betere groei bij biggen of mestvarkens en hogere productiviteit bij zeugen, 2) verbetering voederefficiëntie en 3) betere gezondheid en mucosale weerstand. Dit kan bereikt worden door sturing van

de fysische en chemische karakteristieken van de verschillende delen van het maagdarmkanaal of door sturing van de bacterieflora in de verschillende delen van het maagdarmkanaal, waarbij de flora in maag en dunne darm niet minder van belang is dan die in de dikke darm. Het is bekend dat de kwantitatieve en kwalitatieve karakteristieken van de bacteriën in het maagdarmkanaal gerelateerd zijn aan de gezondheid van het dier. Dynamische aspecten van modulatie van functionele kenmerken van het maagdarmkanaal en zijn microflora door toegevoegde organische zuren in combinatie met in het darmlumen geproduceerde zuren zijn echter nog maar zeer ten dele bekend, met name voor wat betreft de dunne darm. In dit hoofdstuk worden daarom kort enige aspecten van de relatie tussen organische zuren en het functioneren en de gezondheid van de dunne darm van het varken geschetst.

3.3 Kenmerken van toegevoegde organische zuren

Zowel organische zuren zodanig als hun zouten zijn beschikbaar voor varkensvoeding (Tabel 1).

Tabel 1. Enige kenmerken van organische zuren en hun zouten die vaak toegepast worden in varkensrantsoenen

	Vorm	Energie (MJ/kg)	Dissociatie constante (pK _a)	Aantastend	Geur
Mierenzuur	Vloeibaar	5.7	3.75	++(+)	Prikkelend
Azijnzuur	Vloeibaar	14.8	4.76	+++	Prikkelend
Propionzuur	Vloeibaar	20.8	4.88	++	Prikkelend
Fumaarzuur	Vast	11.5	3.02/4.38	0 tot (+)	Reukloos
Citroenzuur	Vast	10.3	3.13/4.76/6.40	0 tot ++	Reukloos
Ca-formaat	Vast	4.55 (NE _v)		0	Neutraal
Na-formaat	Vast	4.55 (NE _v)		0	Neutraal
Ca-propionaat	Vast	3.9		0	Neutraal

Organische zuren worden in alle delen van de dunne darm passief opgenomen waarbij de opname lineair toeneemt met afname van de pH of toename van de concentratie (Bergman, 1990). Mierenzuur is in niet-gedissocieerde vorm met name effectief tegen gisten en enige enterotoxische bacteriën, terwijl *Lactobacilli* en schimmels relatief resistent zijn (Kirchgessner et al., 1997). Toevoeging van overmatige hoeveelheden mierenzuur kan echter leiden tot maagzweren en een geringe metabole acidose (Makar et al., 1990; Grassmann et al., 1992; Eidelsburger et al., 1992; Mroz en Kwakernaak, 1999). Azijnzuur onderdrukt de groei van vele soorten bacteriën en gisten en in mindere mate schimmels. Propionzuur is met name effectief tegen schimmels en kan door vele gisten gemetaboliseerd worden (Foegeding en Busta, 1991). Zonder toevoeging is de concentratie VVZ in de maag en dunne darm minder dan 40 mmol/L chymus, en de molaire ratio is rantsoen afhankelijk (Clemens et al., 1974; Mikkelsen en Jensen, 1997). Melkzuur is met name effectief tegen bacteriën en kan door vele schimmels en gisten gemetaboliseerd worden (Foegeding en Busta, 1991). Melkzuur wordt ook in de maag (37-82 mmol/kg chymus) en dunne darm (8-48 mmol/kg chymus) van biggen en mestvarkens geproduceerd door vele soorten bacteriën (Mikkelsen en Jensen, 1997; Partanen en Mroz, 1999). Citroenzuur is veelal minder anti-microbieel effectief omdat het door vele organismen gemetaboliseerd kan worden en door zijn lage pK_a (Foegeding en Busta, 1991). Andere organische zuren (appelzuur, wijnsteenzuur en sorbinezuur) zijn

ook uitgeprobeerd in varkensrantsoenen. Appelzuur (uit appels) is effectief tegen sommige bacteriën en gisten. Wijnsteenzuur (uit druiven) heeft een sterk zure smaak. Sorbinezuur (uit bessen) heeft een wrange smaak en onderdrukt enzymen van gisten, schimmels en sommige bacteriën (Foegeding en Busta, 1991).

3.4 Effect van organische zuren op verteerbaarheid en groei

Er zijn verschillende studies naar de rol van organische zuren in de bevordering van verteerbaarheid en groei in varkens. In onze recente studie met mestvarkens en zeugen (Mroz et al., 1998a,1998b; Kemme et al., 1999) werd gevonden dat mierenzuur, fumaarzuur, boterzuur en melkzuur de ileale verteerbaarheid van ruw eiwit en enkele essentiële aminozuren verbeterden (Tabel 2).

Tabel 2. Veranderingen (%) in ileale ruw eiwit en aminozuurverteerbaarheid in mestvarkens en zeugen door toevoeging van organische zuren

Zuur	g/kg rantsoen	RE	Lys	Met	Trp	Thr	Leu
Mestvarkens							
Mierenzuur	13.8	+4.2*	+4.7*	+2.3	+4.5*	+4.7*	+3.2*
Fumaarzuur	17.6	+3.4	+4.0*	+0.8	+4.2*	+4.3*	+2.9*
n-Boterzuur	26.7	+5.2*	+3.9*	+2.0	+5.3*	+4.8*	+3.5*
Melkzuur	30.0	+1.0	0.9**	+1.4*	+1.1	+0.9*	+1.1
Zeugen (eind lactatie)							
Mierenzuur + Propionzuur (25% +75%)	6.0	+0.9	+0.6	+0.7	+0.5	+0.9	+1.0

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Meestal, maar niet altijd, hebben organische zuren een positief effect op de energie-, stikstof- en mineralenbalans en op de groei van varkens (zie voor overzicht Partanen en Mroz, 1999). Het ontbreken van een uniforme respons op toevoeging van organische zuren kan toegeschreven worden aan verschillen in de sturing van het maagdarmkanaal. In ons onderzoek toevoeging van mierenzuur, melkzuur en propionzuur heeft een positief effect op de groei van varkens (Tabel 3).

Tabel 3. Voeropname, groei en voederconversie (VCR; kg voer/kg groei) bij biggen (22-47 kg) gevoerd met mierenzuur, melkzuur en propionzuur (Jongbloed en Jongbloed, 1996).

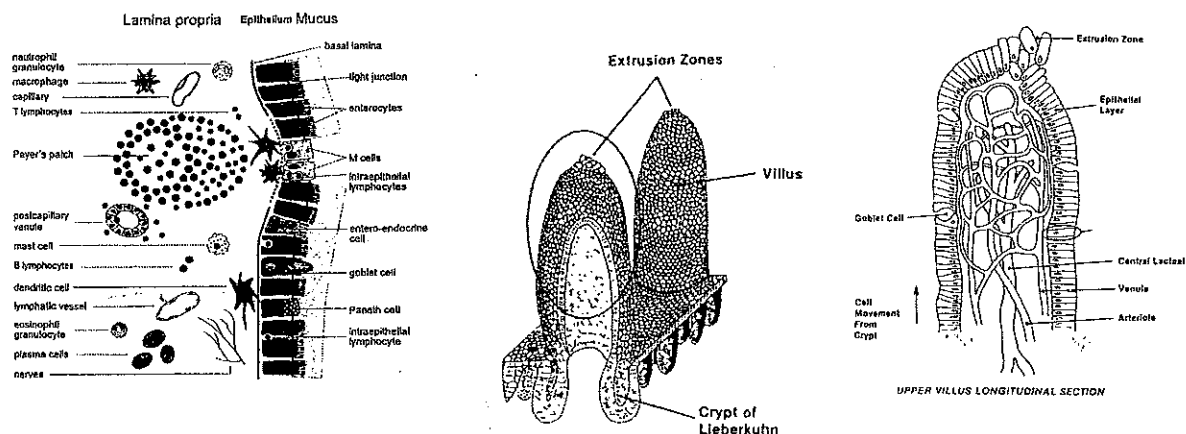
Behandeling	Opname (kg/dier)	Groei (g/dag)	Groei (%)	VCR
Controle	1.716	732	100.0	2.37
Mierenzuur (16 g/kg)	1.798	816*	111.5*	2.22
Melkzuur (32 g/kg)	1.780	797*	108.9*	2.24
Propionzuur (10 g/kg)	1.797	833*	113.8*	2.16

* $P < 0.05$

3.5 Functionele kenmerken van de dunne darm met zijn complexe ecosysteem

De dunne darm is 18 tot 26 m lang en bestaat uit duodenum, jejunum (ongeveer 90% van de totale lengte) en ileum. De dunne darm is primair de plaats waar opname van nutriënten plaatsvindt met behulp van verteringsenzymen, maar is ook een gebied waar het immuunsysteem, met name via het lymfoïde weefsel bij het jejunum, strijdt met potentiële pathogenen, zoals sommige *E.coli* stammen, clostridia, salmonella en andere haemolytische bacteriën.

Figuur 1. Schematisch overzicht van de dunne darm met villi in varkens.



Het absorptie oppervlak van de dunne darm is enorm groot door de aanwezigheid van villi (figuur 1). In het jejunum zijn de villi ongeveer 1 mm lang en de villi worden korter richting het ileum. De vorm van de villi is aan voortdurende verandering onderhevig door de celturnover en de aard van het voer. Cellen in het villus oppervlak zijn met name enterocyten (vertering en absorptie activiteit) en slijmbeker cellen (mucus productie). Miller et al. (1986) toonden aan dat de villus hoogte gehalveerd en de crypt diepte verdubbeld wordt na het spenen. Pathogene bacteriën koloniseren de oppervlakte en kunnen schade aanrichten door binnen te dringen of door het uitscheiden van toxinen, die direct de absorptie effectiviteit aantasten. (Nabuurs, 1998).

3.6 Werkingsmechanisme van organische zuren

Enige hypothetische werkingsmechanismen van organische zuren zijn in tabel 4 samengevat.

Toegevoegde organische zuren beïnvloeden, in samenhang met in het darmlumen geproduceerde VVZ, de dynamische veranderingen en synergie/antagonie tussen de meer dan 400 bacterie soorten in de dunne darm. Het aantal bacteriën in de darm is afhankelijk van de leeftijd van het dier. Bij pas gespeende biggen is het aantal coliforme bacteriën in maag, duodenum en jejunum minder dan 10^6 en in het ileum 10^6 - 10^8 per g chymus (Jensen, 1998). Het aantal *Lactobacilli* in de maag van net gespeende biggen is 10^9 en in de dunne darm 10^8 . In de eerste week na het spenen neemt het aantal coliforme bacteriën in de dunne darm toe tot 10^6 tot 10^9 , terwijl het aantal *Lactobacilli* daalt. Een voorbeeld van de relatie tussen organische zuren en de *in vitro* aanhechting van enterotoxische *E. coli* staat in tabel 5.

Tabel 4. Mogelijke werkingmechanismen van organische zuren

in voer
<ul style="list-style-type: none"> • Verlagen pH en buffer capaciteit • Voorkomen van microbiel bederf en rotting
in maag en dunne darm
<ul style="list-style-type: none"> • De niet-gedissocieerde vorm diffundeert over de bacteriewand waarna er veel energie nodig is om de overmaat aan H⁺ ionen te elimineren en er een vernietigende invloed op DNA synthese is • Dissociatie in de darm genereert H⁺ ionen die als een pH barrière die kolonisatie van (pathogene) bacteriën aan de darmwand verhindert • Verlaging pH in de maag (aanvullend op de suboptimale HCl productie in biggen) • Hydrolyse in de maag genereert H⁺ ionen die pepsine activeert en bacteriële groei remt • Selectieve groei van nuttige bacteriën • Energetisch substraat • Modulatie / stimulatie van mucosale ontwikkeling, epitheliale cel groei en groter absorptie oppervlak • Precursor voor de synthese van niet-essentiële aminozuren en DNA nodig voor darm groei • Modulatie en / of stimulatie van exocriene en endocriene secretie (pancreas en darm) • Verhoging van de absorptie van organische en anorganische nutriënten • Verlagen cholesterol concentratie en toename bloedstroom

Tabel 5. De *in vitro* effecten van propionzuur, mierenzuur en hun combinatie op de aanhechting van enterotoxische *E.coli* (naar Gedek, 1999).

Organisch zuur	Organisch zuur toegevoegd (%)	<i>E. coli</i> aanhechting (%)
Geen	0.0	100
Mierenzuur	0.1	46
Mierenzuur + propionzuur (75 + 25%)	1.0	45
Mierenzuur + propionzuur (50 + 50%)	0.5	49
	0.75	53
	1.0	6
Mierenzuur + propionzuur (25 + 75%)	0.5	94
	0.75	44
	1.0	19

3.7 Beïnvloeding van gezondheid en functioneren van de dunne darm door organische zuren

Sturing van de ontwikkeling van het maagdarmkanaal is een complex, multifactorieel probleem, dat op meerdere manieren aangepakt kan worden. Voordat sturingsmechanismen door toevoeging van organische zuren vastgesteld kunnen worden moet duidelijk zijn wat voor dier het betreft (big, mestvarken, zeug), waarop het gericht is (maag, dunne darm, dikke darm) en wanneer (voor of na het spenen starten,

gedurende de hele mestperiode) en hoe sturen (soort en dosering van organische zuren al dan niet ingekapseld en bij korrel of brijvoeding). Beperkte en soms tegenstrijdige informatie is beschikbaar met betrekking tot de rol van organische zuren in de ontwikkeling en differentiatie van epitheel cellen, mucosale immuniteit en de absorptie capaciteit van de dunne darm in varkens. Dat na het spenen verlies van absorptie oppervlakte optreedt ten gevolge van een beperking van de vlokhoogte en een vergroting van de cryptediepte is algemeen bekend, maar een interactie van organische zuren met de darmwandmorfologie en de epitheelfunctie is slechts zeer fragmentarisch onderzocht. In het algemeen wordt gesteld dat toevoeging van organische zuren tezamen met in de darm geproduceerde VVZ een positief effect zouden kunnen hebben op gezondheid en functioneren van epitheelcellen via een systemisch mechanisme hoewel een directe route hierbij ook niet uitgesloten kan worden. VVZ die in het lumen van het maagdarmkanaal geproduceerd worden kunnen tot maximaal 30% van de totale energie behoefte voor onderhoud leveren. Een deel van deze energie wordt gebruikt door de darmwand, met name in de dikke darm (Bugaut, 1987). Galfi en Bokori (1990) vonden dat 0.17% Na-butyraat in het rantsoen resulteerde in een aanzienlijke toename van het aantal darmepitheelcellen (34%) en de vlok lengte (30%) in het ileum van mestvarkens, terwijl de varkens ook beter groeiden. Of andere organische zuren hetzelfde effect hebben is niet bekend. Wel is bekend dat VVZ geproduceerd in het darmlumen de epitheliale cel groei stimuleren waarbij het effect van boterzuur groter is dan van propionzuur of azijnzuur (Sakata et al., 1995; Marsman en McBurney, 1996). Een zelfde toegenomen epitheliale celgroei is ook waargenomen als VVZ intraveneus of in het darmlumen worden toegediend (Frankel et al., 1994).

De secretie van pancreassappen wordt geregeld door het autonome zenuwstelsel en hormonale factoren. Er zijn aanwijzingen dat organische zuren zowel de endocriene als exocriene pancreas secretie in varkens kunnen stimuleren. Toevoeging van HCl of melkzuur in het duodenum bevordert de pancreassecretie maar dit is afhankelijk van de pH (Harada et al., 1986). Daarnaast wordt de pancreasrespons geïnduceerd door andere zuren (250 mmol) bij pH 2: mierenzuur > melkzuur > azijnzuur > boterzuur > propionzuur.

In ratten verbetert de toevoeging van een combinatie van Na-acetaat, Na-propionaat en Na-butyraat de niet-specifieke immuniteit (Pratt et al., 1996), maar met betrekking tot het varken zijn hierover geen gegevens beschikbaar.

3.8 Verder onderzoek

Effectieve toepassing van organische zuren in varkensrantsoenen als potentieel alternatief voor profylactische doses antibiotica vereist meer onderzoek, zowel *in vitro* als *in vivo* met als doel een meer specifieke beoordeling van darmgezondheid (structuur, permeabiliteit, epitheliale celgroei, mucosale immuniteit) en functionele kenmerken (enzymsecretie, maaglediging, passagesnelheid en mucosale immuniteit). Het exacte effect van organische zuren op bacteriën in chymus al dan niet gehecht aan de darmwand is ook nog niet bekend, hetgeen het ontbreken van een uniforme respons op toevoeging van organische zuren gedeeltelijk verklaart. In ons pas recent gestarte onderzoek willen we in eerste instantie het effect van verschillende organische zuren op de overleving van een vertegenwoordiger van de negatieve darmflora (*E. coli*) en een vertegenwoordiger van de positieve darmflora (*Lactobacillus*) *in vitro* onderzoeken bij een pH die representatief is voor de maag en een pH die representatief is voor de dunne darm van (pas gespeende) biggen. Het idee is om uit deze eerste *in vitro* proef de organische zuren te selecteren die de overleving van *E. coli* nadelig beïnvloeden en geen of weinig effect hebben op de overleving van *Lactobacillus*. Van deze geselecteerde

organische zuren zal vervolgens *in vitro* een optimale dosis worden bepaald. In een zogenoemde SISF (Small Intestine Segment Perfusion; Nabuurs et al., 1998) test wordt daarna onderzocht of deze zuren op verschillende plaatsen in de dunne darm van pas gespeende biggen inderdaad in staat zijn om de door *E. coli* geïnduceerde vocht secretie (die leidt tot diarree) te verhinderen of beperken. Als één of meerdere zuren een positief resultaat opleveren zal *in vivo* het effect hiervan worden bestudeerd waarbij er zonder meer aandacht zal zijn voor het effect van de toevoeging op de epitheliale celgroei en de mucosale immuniteit, omdat de kennis hierover marginaal is.

3.9 Literatuur

- Bergman, E.N. (1990) *Physiol. Rev.* 70: 567-590
- Bugaut, M. (1987) *Rev. Comp. Biochem. Physiol.* 86B: 439-472
- Clemens, E.T., Stevens, C.E. en Southworth, M. (1975) *J. Nutr.* 105: 759-768
- Eidelsburger, U., Roth, F. X. en Kirchgessner, M. (1992) *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 68: 33-42
- Foegeding, P. M. en Busta, F. F. (1991) In: *Disinfection, sterilization and preservation*, pp. 802-832. [S. S. Block, editor]. Philadelphia: Lea & Febiger
- Frankel, W.-L., Zhang, W., Singh, A., Klurfeld, D. M., Don, S., Sakata, T., Modlin, I. en Rombeau, J. L. (1994) *Gastroenterol.* 106: 375-380
- Gálfi, P. en Bokori, J. (1990) *Acta Vet. Hungarica* 38: 3-17
- Gedek, B. (1999) *Kraftfutter* 4: 142-146
- Grassmann, E., Roth, F. X. en Kirchgessner, M. (1992) *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 67: 250-257
- Harada, E., Niiyama, M. en Syuto, B. (1986) *Jap. J. Physiol.* 36: 843-658
- Jongbloed, A.W. en Jongbloed, R. (1996) Rapport ID-DLO no. 96-009
- Jensen, B.B. (1998) *J. Anim. Feed Sci.* 7: 45-64
- Kemme, P.A., Jongbloed, A.W., Mroz, Z. en Beynen, A.C. (1999) *Livest. Prod. Sci.* 58:107-117
- Kirchgessner, M., Paulicks, B. R. en Roth, F. X. (1997) *Agribiol. Res.* 50: 1-7
- Kirchgessner, M. en Roth, F.X. (1988) *Übers. Tierernährung* 16: 93-108
- Makar, A. B., Tephly, T. R., Sahin, G. en Osweiler, G. (1990) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 105: 315-320
- Marsman, K. E. en McBurney, M. I. (1996) *J. Nutr.* 126: 1429-1437
- Mikkelsen, L.L. en Jensen, B.B. (1997) In: *Proceedings VIIth Symposium on Digestive Physiology in Pigs*, pp. 639-642. EAAP Publication no 88
- Miller, B.G., James, P.S., Smith, M.W. en Bourne, F.J. (1986) *J. Agric. Sci., Camb.* 107: 579-589
- Mroz, Z., Jongbloed, A.W., Partanen, K., van Diepen, J.Th.M., Vreman, K. en Kogut, J. (1998a) *J. Anim. Feed Sci.* 7: 191-197
- Mroz, Z., Grela, E., Krasucki, W., Kies, A.K. en Schöner, F.J. (1998b) *J. Anim. Sci.* 76: 177
- Mroz, Z. en Kwakernaak C. (1999) Rapport ID-DLO no. 99.028
- Nabuurs, M.J.A. (1998) *Vet. Quart.* 20: S42-S45
- Partanen, K. en Mroz, Z. (1999) *Nutr. Res. Rev.* 12: 1-30
- Pratt, V.C., Tappenden, K.A., McBurney, M.I. en Field, C.J. (1996) *J. Parent. Enteral Nutr.* 20: 264-271
- Sakata, T., Adachi, M., Hashida, M., Sato, N. en Kojima, T. (1995) *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 102: 163-164

redactie:

M.C. Blok¹⁾, L. de Lange²⁾ en H.A. Vah³⁾

¹⁾ Productschap Diervoeder, Den Haag

²⁾ De Heus Brokking Koudijs, Barneveld

³⁾ ACM, Aan- en Verkoop Coöperatie Meppel BA, Meppel

Voeding en gezondheid van het maagdarmkanaal

Onderzoeksreeks 4
juni 1999

Productschap Diervoeder
Stadhoudersplantsoen 12
2517 JL Den Haag
Telefoon 070 - 370 87 08

ISSN 1389-5141