

ENZYMES IN LAYING HENS NUTRITION AND THEIR INFLUENCE ON THE PERFORMANCE, ENERGY AND MINERAL COMPOSITION OF EGGS OF LAYERS FED DIET WITH HIGHER CONTENT OF NON-STARCH POLYSACCHARIDES

Ruzsíková E., Horniaková E., Gálik B.

Department of Animal Nutrition, Faculty of Agrobiological and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: edina.ruzsikova@uniag.sk

ABSTRACT

The research objective was to determine the effect of enriched layers diets containing rye (15%), barley (20%) and wheat (26%) with a commercially prepared enzymes mixture (xylanase, β -glucanase) on ISA Brown laying hens performance, egg energy and mineral content. ISA Brown laying hens at 22 weeks of age were randomly assigned to 2 groups (C – control, E – experimental) of 90 birds each. Birds were fed diets of 18; 16% crude protein and 11.1; 11.8 MJ.kg⁻¹ metabolizable energy with or without 0.08 g.kg⁻¹ enzyme supplement until 46 weeks of age. Layers on supplemented diet exhibited a significantly increase (0.08 kg) in their body weight at the end of the experiment ($P < 0.001$). Inclusion of enzymes significantly improved egg production. The addition of xylanase and glucanase to the diets reduced the total lipid and cholesterol contents in egg yolk. Yolk energy was not significantly affected with the addition of enzymes. Yolk iron and zinc levels were significantly decreased in the experimental group in compared to control. The opposite tendency in content of iron ($P < 0.001$) and copper were observed in the egg white in experimental group.

Key words: xylanase, glucanase, layers, egg, mineral elements, energy

Acknowledgments: This study has been supported by the Scientific Grant Agency of the Ministry of the Education (n. 1/0610/08) and by the Excellence Center for Agrobiodiversity Conservation and Benefit (26220120015) project implemented under the Operational Programme Research and Development financed by European Fund for Regional Development

ÚVOD

Obilniny predstavujú vysoký ekonomický a nutričný potenciál vo výžive monogastričných zvierat. Ich hlavnou živinovou zložkou je škrob, ktorý tvorí 60-70 % hmotnosti zrna (Annison, 1990). Zrno obilnín okrem škrobu obsahuje aj značné množstvo vodorozpustných neškrobnatých polysacharidov, ktoré sú obsiahnuté v stenách buniek endospermu. V jačmeni a ovsí sú zastúpené hlavne betaglukány, v pšenici a raži arabinoxylany (Henry, 1985). Monogastričné zvieratá neprodukujú enzým na trávenie neškrobnatých polysacharidov. Tieto zložky zrna obilnín sú charakterizované ako antinutričné látky (Bedford, 1993). Ich antinutričný vplyv je sprostredkovaný množstvom mechanizmov, vrátane zvyšovania viskozity tráviacej sústavy (Choct a Annison, 1992; Smits a Annison, 1996; Smits et al., 1997), viazaním žlčových solí, čím sa redukuje rozpustnosť a absorpcia tukov (Ebihara a Schneeman, 1989), zvyšovaním fermentácie v tenkom čreve a poklesom stráviteľnosti živín (Bedford, 1993; Choct et al., 1996; Roberts a Choct, 2006). Mnohé štúdiá dokazujú testovanie účinku enzýmov vo výžive brojlerových kurčiat, avšak relatívne málo publikácií vzniklo z pokusov na nosniciach (Jamroz et al., 2001; Malhouthi et al., 2002; Ciftci et al., 2003). Niektorí autori uvádzajú, že zaradenie glukonázy a xylanázy do výživy nosníc zvyšuje produkciu vajec (Mathlouthi et al., 2002) a nemá vplyv na kvalitu škrupín (Ciftci et al., 2003), podľa iných vôbec neovplyvňuje produkciu vajec (Halle, 2003). Štúdiá zaoberajúce sa vplyvom spomínaných enzýmov neobsahujú žiadne informácie o ich vplyvu na minerálne zloženie a energetickú hodnotu vajec. Cieľom práce bolo preskúmať vplyv multienzymového doplnku výživy na úžitkovosť, minerálne zloženie a energetickú hodnotu konzumných vajec pochádzajúcich od nosníc, ktoré boli kŕmené zmesou na báze cereálií (pšenica, raž, jačmeň) s vyšším obsahom neškrobnatých polysacharidov.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus bol realizovaný ako dvojskupinový (C – kontrolná, E – pokusná skupina) porovnávací znáškový test v šiestich opakovaniach na Biologicko-testačnej stanici ÚKSÚP vo Víglaši. Aktívnu zložku testovaného prípravku tvorili enzýmy endo-1,4- β -xylanáza (7820 TXU.g⁻¹) a endo-1,4- β -glukanáza (2940 TGU.g⁻¹) produkované kmeňom mikroskopických húb *Aspergillus niger* (5600 TXU.g⁻¹). Výživový doplnok použitý v pokuse je určený do kŕmnych zmesí pre nosnice s vysokým obsahom xylánov a betaglukánov. Schéma pokusu je uvedená v Tab. 1. Do pokusu boli zaradené sliepocky ISA Brown vo veku 22 týždňov. Do znáškových klieťok boli náhodne rozdelené po 5 kusov, pričom ich celkový počet v jednej skupine bol 90 kusov. Mikroklimatické podmienky boli sledované cez deň aj v noci, pričom teplota sa pohybovala v rozpätí 16-27 °C.

Tab. 1 Schéma pokusu

Obdobie	Kontrolná skupina	Pokusná skupina
1. fáza znášky (1)	D1	D1 s 0,08 g.kg ⁻¹ ED
2. fáza znášky (2)	D2	D2 s 0,08 g.kg ⁻¹ ED

(1) 22.-28. týždeň veku, (2) 29.-46. týždeň veku, ED – enzymatický doplnok

Príjem krmiva a vody nebol obmedzený. Diéty sliepok pozostávali z cereálií (pšenica, raž, jačmeň) s vyšším obsahom vodorozpusťných neškrobnatých polysacharidov s prídavkom alebo bez prídavku enzymatického doplnku (Tab. 2).

Tab. 2 Zloženie a výživná hodnota krmných zmesí

Komponenty (g.kg ⁻¹)	D1	D2
Pšenica	263	268
Raž	150	150
Jačmeň	200	250
Sójový extrahovaný šrot	220	180
Sójový olej	25	5
Živočišny tuk hydínový	20	45
Monokalciumfosfát	17	12
Uhlíčitán vápenatý	91,4	76,5
Chlorid sodný	3	3
Hydrogenuhlíčitán sodný	1	1
DL-metionín (50 %)	1,6	1,5
Premix vitamínový ¹	4	4
Premix minerálny ²	1	1
Premix cholín chloridu (50 %)	2	2
Premix karoténový ³	1	1
Enzymatický doplnok ⁴	0,08	0,08
Výživná hodnota krmných zmesí	D1	D2
Sušina (g.kg ⁻¹)	896	891
Dusíkaté látky (g.kg ⁻¹)	178,4	157,7
ME _N (MJ.kg ⁻¹)	11,1	11,8
Tuk (g.kg ⁻¹)	67	75
Minerálne látky (g.kg ⁻¹)	133	110
Vláknina (g.kg ⁻¹)	23	24
Bezdušikaté látky výťažkové (g.kg ⁻¹)	494,6	524,3
Ca (g.kg ⁻¹)	38	32
P (g.kg ⁻¹)	8,8	6,1
Na (g.kg ⁻¹)	1,7	1,5

(1) (2) obsahuje v 1 kg zmesi: vitamín A 12 000 IU; vitamín D3 2 400 IU; vitamín E 20 mg; vitamín K3 1 mg; vitamín B1 2 mg; vitamín B2 6 mg; vitamín B6 4 mg; vitamín B12 20 µg; biotín 40 µg; kyselina listová 0,8 mg; kyselina nikotínová 30 mg; kyselina pantoténová 8 mg; cholín chlorid 1000 mg; Fe 88 mg; Zn 44 mg; Cu 6 mg; Mn 44 mg; I 0,44 mg; Co 0,1 mg; Se 0,13 mg; (3) obsahuje v 1 kg zmesi: 4,4-Dioxo-β-karotén 30 mg; β-apo-8'-etylexer kyseliny karoténovej 40 mg; (4) endo-1,4-β-xylanáza (7 820 TXU.g⁻¹) a endo-1,4-β-glukanáza (2 940 TGU.g⁻¹)

Počas experimentu v jednotlivých fázach znášky sme odoberali vajcia (n=108) a sledovali vplyv prípravku na obsah živín v nich. Zisťovali sme priemernú živú hmotnosť sliepok pri zahájení a ukončení jednotlivých fáz. Sledovali sme účinok enzýmov na počet, hmotnosť a zloženie vajec. Vzorky vaječných žĺtkov a bielkov boli analyzované na obsah sušiny, dusíkatých látok, tuku a minerálnych látok. Organický rozbor bol vykonaný na základe platnej metodiky (Výnos MP SR č. 2145/2004-100). Koncentráciu Ca, Cu, Zn, Fe a Mg sme zisťovali atómovým absorbným spektrofotometrom GBC Avanta podľa ISO 6868:2000. Obsah P sme stanovili spektrofotometricky podľa ISO 699:1998. Draslík a sodík bol meraný s použitím plameňového fotometra PFP7 (ISO 7485:2000). Obsah cholesterolu v žĺtkoch sme zisťovali spektrofotometricky (Sedlák et al., 2007). Vaječné žĺtky pre ich uchovanie na ďalšie analýzy boli zlyofilizované. V lyofilizovaných vzorkách sme stanovili energetickú hodnotu vaječných žĺtkov pomocou kalorimetra LECO AC500. Výsledky experimentu boli matematicko-štatisticky vyhodnotené počítačovým štatistickým programom *STATGRAPHICS Centurion XV.II* metódou ANOVA (jednofaktorová analýza rozptylu) na hladine významnosti $P < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V 1. fáze znášky priemerná živá hmotnosť sliepok prídavkom enzýmov nebola ovplyvnená. Priemerná znáška na 1 nosnicu vyjadrená v ks vajec bola v skupine E 42,98 a v kontrolnej skupine 41,77 kusov. Rozdiel medzi skupinami bol štatisticky preukazný ($P < 0,05$). Priemerná znáška na nosnicu vyjadrená v kg vaječnej hmoty prídávaním enzýmov bola signifikantne pozitívne ovplyvnená ($P < 0,01$). Zvyšovanie úžitkovosti nosníc v pokusnej skupine (o 0,09 kg) bolo spôsobené vplyvom enzýmov na stráviteľnosť a využiteľnosť živín, čo bolo zabezpečené znížením viskozity čriev. Nezistili sme štatisticky preukazný rozdiel medzi skupinami pri porovnávaní hodnôt priemernej hmotnosti vajec (E: 58,54 g, C: 58,04 g). Roberts a Choct (2006) vo svojich pokusoch na nosniciach ktorým pridávali xylanázu a β -glukanázu do zmesí s vyšším obsahom neškrobnatých polysacharidov zistili, že testované enzýmy zvyšujú hmotnosť vajec ($P > 0,05$). Ukazovatele priemerná živá hmotnosť, priemerná znáška na 1 nosnicu a hmotnosť vajec sú uvedené v Tab. 3. Po vyhodnotení výsledkov z 2. fázy znášky sme zistili v skupine E o 0,08 kg vyššiu priemernú živú hmotnosť sliepok v porovnaní s kontrolou ($P < 0,001$). Naše výsledky korešpondujú s výsledkami Mathlouthiho et al. (2003), ktorí po pridávaní rovnakých enzýmov do zmesi nosníc zaznamenali na konci pokusu nárast telesnej hmotnosti o 0,086 kg v porovnaní s kontrolou, v ktorej zvieratá stratili 0,106 kg zo živej hmotnosti. Priemerná znáška na 1 nosnicu (7,69 kg) a priemerná hmotnosť vajec (64,61 g) bola aplikáciou enzýmov pozitívne ovplyvnená aj v tejto fáze znášky ($P > 0,05$).

Tab.3 Priemerné hodnoty živej hmotnosti nosníc, znášky na jednu nosnicu a hmotnosti vajec v 1. a 2. fáze znáškového obdobia

Ukazovateľ	Jednotka	1. fáza znášky			2. fáza znášky		
		C	E	P	C	E	P
		x±s	x±s		x±s	x±s	
Priem. živá hmot. pri zahájení znášky	kg	1,86±0,03	1,87±0,01		1,86±0,03	1,87±0,01	
Priem. živá hmot. pri ukončení znášky	kg	1,86±0,03	1,87±0,01		2,21±0,02	2,29±0,02	+++
Priem. znáška na 1 nosnicu	kus	41,77±0,50	42,98±0,94	+	119,31±1,23	119,11±1,73	
Priem. znáška na 1 nosnicu	kg	2,42±0,03	2,51±0,06	++	7,63±0,07	7,69±0,10	
Priem. hmotnosť vajca	g	58,04±0,33	58,54±1,07		64,13±0,21	64,61±0,75	

C – kontrola; E – pokusná skupina; x – priemer; s – smerodajná odchýlka; P – štatistická preukaznosť na hladine významnosti $\alpha=0,05$; + P<0,05; ++ P<0,01; +++ P<0,001

V jednotlivých fázach znášky sme sledovali zloženie vaječných žĺtkov. Výsledky analýz a štatistické vyhodnotenie jednotlivých ukazovateľov sú uvedené v tabuľke 4.

V 1. fáze znášky obsah dusíkatých látok v žĺtkoch bol v skupine E signifikantne vyšší o 0,62 % v porovnaní s kontrolou (P<0,01). V obsahu tuku a cholesterolu sme zaznamenali mierny pokles v pokusnej skupine (P>0,05) oproti kontrole. Hladina cholesterolu vo vaječnom žĺtku v skupine E bola nižšia v priemere o 1,01 mg.g⁻¹ žĺtkovej hmoty. Koncentrácia železa v pokusnej skupine sa signifikantne znížila o 26,74 mg.kg⁻¹ v porovnaní s kontrolou.

V 2. fáze znášky sme zistili v skupine E pokles hladiny zinku o 14,04 mg.kg⁻¹ (P<0,05) oproti kontrole. V obsahu železa (C: 158,2 mg.kg⁻¹, E: 138,52 mg.kg⁻¹) v pokusnej skupine sme zaznamenali štatisticky preukazný pokles (P<0,01). Energetická hodnota žĺtkov nebola aplikáciou enzýmov významne ovplyvnená.

Tab. 4 Zloženie a energetická hodnota vaječných žĺtkov

Ukazovateľ	Jednotka	1. fáza znášky			2. fáza znášky		
		C	E	P	C	E	P
		x±s	x±s		x±s	x±s	
Sušina	%	50±0,26	49,73±0,63		49,31±0,39	49,44±0,60	
N-látky	%	30,72±0,31	31,34±0,30	++	31,68±0,55	31,22±0,39	
Tuk	%	60,22±0,43	59,72±0,59		60,26±0,88	59,70±0,66	
Minerálne látky	%	3,58±0,12	3,71±0,19		3,60±0,20	3,66±0,11	
Cholesterol	mg.g ⁻¹	15,24±0,58	14,23±1,07		13,86±0,68	13,62±1,18	
Ca	g.kg ⁻¹	1,20±0,15	1,09±0,05		0,99±0,04	0,97±0,06	
P	g.kg ⁻¹	8,82±0,28	9,09±0,71		9,28±0,21	8,94±0,45	
Mg	mg.kg ⁻¹	255,83±16,02	253,00±20,46		278,17±13,49	250,33±30,78	
Na	g.kg ⁻¹	1,49±0,19	1,29±0,15		1,43±0,06	1,41±0,22	
K	g.kg ⁻¹	2,73±0,23	2,52±0,19		2,77±0,23	2,75±0,23	

MENDELNET 2010

Fe	mg.kg ⁻¹	202,69±21,40	175,95±12,79	+	158,2±13,32	138,52±5,93	++
Zn	mg.kg ⁻¹	114,67±2,73	115,93±11,68		109,35±5,77	95,31±9,87	+
Cu	mg.kg ⁻¹	9,69±1,68	9,57±1,58		5,10±0,57	4,77±0,32	
Energetická hodnota	MJ.kg ⁻¹	31,51±0,39	31,33±0,80		31,88±0,58	32,08±0,29	

C – kontrola; E – pokusná skupina; x – priemer; s – smerodajná odchýlka; P – štatistická preukaznosť na hladine významnosti $\alpha < 0,05$; + P<0,05; ++ P<0,01

Súčasťou stanovených cieľov pokusu bolo aj zisťovanie zloženia vaječného bielka. Priemerné hodnoty jednotlivých ukazovateľov a ich štatistické vyhodnotenie sú vyjadrené v tabuľke 5. Obsah sušiny, dusíkatých a celkových minerálnych látok vo vaječnom bielku nebol štatisticky preukazne ovplyvnený prídavkom enzýmov. V 1. fáze znášky v skupine E sme zaznamenali signifikantné zvýšenie obsahu železa o 68,99 mg.kg⁻¹ (P<0,001). Koncentrácia medi v pokusnej skupine bola 8,40 mg.kg⁻¹ a v kontrolnej 5,79 mg.kg⁻¹. Rozdiel medzi skupinami (2,61 mg.kg⁻¹) bol štatisticky preukazný (P<0,05).

Tab. 5 Zloženie vaječných bielkov

Ukazovateľ	Jednotka	1. fáza znášky			2. fáza znášky		
		C	E	P	C	E	P
		x±s	x±s		x±s	x±s	
Sušina	%	13,23±0,24	13,36±0,25		12,19±0,19	12,29±0,24	
N-látky	%	87,77±2,65	86,09±1,51		85,69±0,53	85,54±1,24	
Minerálne látky	%	5,42±0,48	6,04±0,53		5,98±0,49	6,25±0,56	
Ca	mg.kg ⁻¹	67,75±9,27	72,1±19,76		38,43±6,89	56,53±9,57	++
P	mg.kg ⁻¹	991,17±247,65	1090,67±297,19		1277±616,74	1163,17±293,72	
Mg	mg.kg ⁻¹	839,17±64,73	847,33±128,54		904,83±140,51	995,83±90,81	
Na	g.kg ⁻¹	11,88±1,33	11,53±1,61		12,73±3,19	13,65±17,76	
K	g.kg ⁻¹	4,55±1,76	5,81±2,37		7,68±3,86	9,67±1,09	
Fe	mg.kg ⁻¹	28,53±13,73	117,52±44,78	+++	76,32±25,78	190,33±35,06	+++
Zn	mg.kg ⁻¹	3,30±3,48	2,05±1,12		6,74±3,26	9,29±3,47	
Cu	mg.kg ⁻¹	5,79±1,01	8,40±1,98	+	3,66±0,31	5,49±1,09	++

C – kontrola; E – pokusná skupina; x – priemer; s – smerodajná odchýlka; P – štatistická preukaznosť na hladine významnosti P<0,05; + P<0,05; ++ P<0,01; +++ P<0,001

V 2. fáze znášky sa prejavil pozitívny účinok prípravku na obsah vápnika. Koncentrácia Ca dosiahla v pokusnej skupine 56,53 mg.kg⁻¹, čím presiahla jeho obsah v kontrole o 18,1 mg.kg⁻¹ (P<0,01). Hladina železa bola v skupine E o 114,01 mg.kg⁻¹ vyššia v porovnaní s kontrolou (P<0,001). V koncentrácii medi (C: 3,66 mg.kg⁻¹, E: 5,49 mg.kg⁻¹) sme tiež zistili signifikantné rozdiely medzi skupinami (P<0,01).

ZÁVĚR

Záverom môžeme skonštatovať, že sa potvrdil pozitívny vplyv aplikácie skúšaného enzymatického doplnku na úžitkovosť nosníc. Z hľadiska zdravej výživy má obrovský význam účinok prípravku znižovať obsah tuku a cholesterolu vo vaječnom žĺtku, pričom sa to výrazne neprejaví na energetickej hodnote produktu. Aplikované enzýmy vyvolali zmeny v ukladaní minerálnych látok vo vaječnom žĺtku a bielku. V pokusnej skupine sme zaznamenali signifikantné znižovanie obsahu železa a zinku v žĺtku. V bielku obsah železa a medi bol signifikantne vyšší. Na základe dosiahnutých výsledkov aplikácia xylanázy a β -glukanázy do kŕmnej zmesi, ktorej základ tvorili pšenica, raž a jačmeň zvýšil úžitkovosť nosníc ISA Brown a pozitívne ovplyvnil zloženie produktov v porovnaní s kontrolou (bez aditíva). Pre získanie presnejších údajov o účinkoch prípravku na nutričnú a energetickú hodnotu vajec sú potrebné ďalšie experimenty s väčším súborom sledovaných zvierat.

LITERATÚRA

ANNISON, G. (1990): Polysaccharide composition of Australian wheats and the digestibility of their starches in broiler chickens. *Aust. J. Exp. Agric.*, 30:183-186.

BEDFORD, M. R. (1993): Mode of Action of Feed Enzymes. *Journal of Applied Animal Research.*, 2: 85-92.

CIFTCI, I.- YENICE, E. – ELEROGLU, H. (2003): Use of triticale alone and in combination with wheat or maize: effects of diet type and enzyme supplementation on hen performance, egg quality, organ weights, intestinal viscosity and digestive system characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 105:149-161.

EBIHARA, K. – SCHNEEMAN, B. O. (1989): Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and tryglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. *Journal of Nutrition*, 119:1100-1106.

HALLE, I. (2003): Effect of enzymes hydrolyzing non-starch polysaccharides (NSP) as feed additives in wheat-based laying hen diets. *Arch. Geflügel.*, 67:242-248.

HENRY, R. J. (1985): A comparison of the non-starch carbohydrates in cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 36:1243-1253.

CHOCT, M. – ANNISON, G. (1992): Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chicken: roles of viscosity and gut microflora. *British Poultry Science*, 33:821-834.

CHOCT, M. et al. (1996): Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the anti-nutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens. *British Poultry Science*, 37:609-621.

JAMROZ, D. et al. (2001): Use of wheat, barley or triticale in feed for laying hens supplemented with carbohydrases derived from *Trichoderma longibrachiatum*. *Journal of Applied Animal Research*, 19:107-116.

MATHLOUTHI, N. – MOHAMED, M. A – LARBIER, M. (2003): Effect of enzyme preparation containing xylanase and β -glucanase on performance of laying hens fed wheat/barley- or maize/soybean meal-based diets. *British Poultry Science*, 44(1):60-66.

MATHLOUTHI, N. et al. (2002): Performance of laying hens fed wheat, wheat-barley or wheat-barley-wheat bran based diets supplemented with xylanase. *Canadian Journal of Animal Science*, 82:193-199.

ROBERTS, J. R. – CHOCT, M. (2006): Effects of commercial enzyme preparations on egg and eggshell quality in laying hens. *British Poultry Science*, 47(4):501-510.

SEDLÁK, J. et al. (2007): *Lipidy. Praktikum z biochemie*, 2. vydanie, s. 64-65.

SMITS, C. H. M. – ANNISON, G. (1996): Non-starch polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. *World's Poultry Science Journal*, 52:203-221.

SMITS, C. H. M. et al. (1997): Dietary carboxymethylcellulose with high instead of low viscosity reduces macronutrient digestion in broiler chickens. *Journal of Nutrition*, 127:483-487.