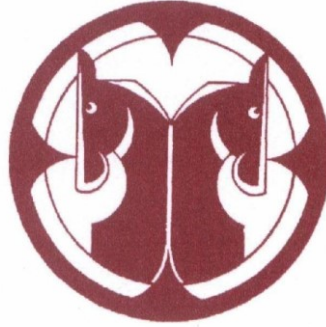


**UNIWERSYTET WARMIŃSKO–MAZURSKI
W OLSZTYNIE
WYDZIAŁ BIOINŻYNIERII ZWIERZĄT**



mgr inż. Anna Woźniakowska

**WPŁYW SOLI KWASU MASŁOWEGO NA SMAKOWITOŚĆ
MIESZANEK PASZOWYCH, WYNIKI ODCHOWU ORAZ STAN JELIT
ODSADZONYCH PROSIĄT**

*Praca doktorska wykonana
w Katedrze Hodowli Trzody Chlewnej
pod opieką naukową promotora
dr hab. Wojciecha Kozery, prof. UWM
oraz promotora pomocniczego
dr inż. Krzysztofa Karpiesiuka*

Olsztyn 2021

STRESZCZENIE

Wpływ soli kwasu masłowego na smakowitość mieszanek paszowych, wyniki odchowu oraz stan jelit odsadzonych prosiąt

mgr inż. Anna Woźniakowska

Celem badań było określenie wpływu stosowania soli kwasu masłowego na wyniki odchowu, parametry hematologiczne i biochemiczne krwi, ilość bakterii *Escherichia Coli* w dwunastnicy, morfometrię jelit, obraz histologiczny wybranych narządów oraz smakowitość mieszanek paszowych dla odsadzonych prosiąt.

W ramach badań przeprowadzone zostały dwa doświadczenia na 72. prosiątach (wielka biała polska x duroc) odsadzonych w 28. dniu życia. Przez cały okres trwania eksperymentu prosięta z grupy kontrolnej (C) otrzymywały mieszanekę podstawową bez czynnika doświadczalnego, natomiast w pozostałych grupach wprowadzono dodatki do mieszanki podstawowej: 4000 mg/kg maślanu sodu (C+SB), 2000 mg/kg maślanu sodu w formie otoczkowanej (C+SBC) lub 2000 mg/kg mieszaniny maślanu wapnia i maślanu sodu w formie otoczkowanej (C+CBSBC) (dostęp do wody i paszy *ad libitum*).

W pierwszym, 8-dniowym eksperymencie 32 prosięta (dobrane metodą analogów pod względem pochodzenia, masy ciała i płci) zostały podzielone na 4 grupy (w każdej po 8 prosiąt) z 4 powtórzeniami, stosując wzór kwadratu łacińskiego 4x4 w celu zbadania wpływu soli kwasu masłowego na smakowitość mieszanek paszowych dla prosiąt. Pasze zadawano 4-krotnie w ciągu dnia, tj. o godz. 8:00, 11:00, 14:00 i 17:00 stosując metodę pojedynczego bodźca. Zwierzęta miały dostęp do mieszanki przez 20 minut w czasie każdego odpasu. W trakcie 8-dniowego doświadczenia rejestrowano czas spożycia i ilość pobranych pasz.

W drugim, 28-dniowym doświadczeniu wykorzystano te same mieszanki paszowe co w poprzednim eksperymencie (dostęp do wody i paszy *ad libitum*). 40 prosiąt (dobrane metodą analogów pod względem pochodzenia, masy ciała i płci), które zważono i rozdzielono do 4 grup porównawczych (w każdej po 10 prosiąt, n=10) z 5 powtórzeniami (po 2 prosięta na powtórzenie). Prosięta ważono indywidualnie cotygodniowo. Ilość podanej i pobranej paszy na kojec notowano codziennie. Ostatniego dnia eksperymentu od 6. prosiąt z każdej grupy doświadczalnej pobrano próbki krwi do analiz hematologicznych (WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, NEUT,

LYM, MONO, EOS, BASO, IG) i biochemicznych (TC, HDL, LDL, TG, GLU). Stężenie zonuliny w surowicy, będącej markerem przepuszczalności jelit oceniono przy użyciu testu immunoenzymatycznego ELISA. W 57. dniu życia prosięta (po 6 z każdej grupy) uśmiercono. Pobrano próbki treści pokarmowej z dwunastnicy do oznaczenia najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) bakterii *Escherichia Coli*. Pobrano fragmenty jelit (dwunastnica, jelito czcze, jelito biodrowe, okrężnica), żołądków, wątrób, trzustek i nerek do dalszych analiz. Przeprowadzono badania morfometryczne jelit oraz oceniono obraz histologiczny wybranych narządów. Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji (ANOVA) przy użyciu programu komputerowego Statistica StatSoft 13.3. Istotność różnic oceniono przy użyciu testu post hoc Tuckey'a dla poziomu istotności $P \leq 0,05$ i $P \leq 0,01$.

Zastosowane dodatki nie miały wpływu na smakowitość paszy. Maślan sodu w ilości 4000 mg/kg paszy istotnie wpłynął na końcową masę ciała prosiąt ($P \leq 0,05$). Najwyższe przyrosty całkowitej masy ciała zaobserwowano u wszystkich prosiąt z grup, które otrzymywały paszę z dodatkiem: maślanu sodu (C+SB) oraz mieszaninę maślanu wapnia i maślanu sodu w formie otoczkowanej (C+CBSBC) bez wpływu na średnie dzienne spożycie paszy. Dodatek 4000 mg/kg maślanu sodu miał lepszy wpływ ($P \leq 0,05$) na całkowity przyrost masy ciała prosiąt niż dodatek 2000 mg/kg chronionego maślanu sodu. Istotne różnice ($P \leq 0,05$) w stężeniach cholesterolu całkowitego, frakcji HDL i triglicerydów w surowicy prosiąt stwierdzono w dwóch grupach. Dodatek do paszy 2000 mg/kg powlekanego maślanu sodu obniżył stężenie całkowitego cholesterolu, a ponadto zastosowanie w paszy 2000 mg/kg mieszaniny maślanu wapnia i sodu w formie otoczkowanej oraz 2000 mg/kg powlekanego maślanu sodu spowodowało spadek stężenia frakcji HDL oraz trójglicerydów. Zastosowane suplementy spowodowały wzrost poziomu glukozy powyżej normy referencyjnej. Dodatek soli kwasu masłowego nie wpłynął istotnie na wskaźniki hematologiczne krwi prosiąt, ale niektóre średnie wartości poszczególnych parametrów nie mieściły się w normach fizjologicznych danego gatunku. Maślan sodu zwiększył poziom białych krwinek (WBC) i procent monocytów (MONO). Włączenie do paszy maślanu sodu i mieszanki maślanu wapnia i sodu w formie otoczkowanej spowodowało spadek poziomu średniej masy hemoglobiny w krwince czerwonej (MCH). Dodatkowo powlekany maślan sodu oraz mieszanina maślanu wapnia i sodu wywołały nadpłytkowość. Dodatek powlekanego maślanu sodu przyczynił się do zwiększenia grubości warstwy mięśniowej żołądka ($P \leq 0,01$), a zastosowanie maślanu sodu i powlekanego maślanu sodu w paszy dla prosiąt spowodowało wzrost ($P \leq 0,05$)

grubości warstwy mięśniowej jelita biodrowego. Ponadto zastosowane suplementy znacząco ($P \leq 0,01$ i $P \leq 0,05$) zwiększyły długość kosmków jelitowych w dwunastnicy bez wpływu na głębokość krypt. Istotny ($P \leq 0,05$) wzrost długości kosmków jelitowych zaobserwowano również w jelicie czczym po zastosowaniu dodatku maślanu sodu. Pochodne kwasu masłowego stosowane w paszy dla prosiąt złagodziły zmiany morfologiczne w żołądku i dwunastnicy. Wszystkie zastosowane dodatki spowodowały wzrost liczby limfocytów śród nabłonkowych w dwunastnicy i jelicie czczym, co oznacza, że stymulowały odpowiedź immunologiczną. Prawidłowy obraz histologiczny wątroby i nerek zaobserwowano po aplikacji maślanu sodu i powlekanego maślanu sodu. Zastosowane suplementy nie wpłynęły na liczebność bakterii *Escherichia coli* w dwunastnicy zwierząt doświadczalnych. w grupach doświadczalnych zaobserwowano spadek stężenia zonuliny we krwi, ale nie na poziomie statystycznie istotnym.

Słowa kluczowe: maślan sodu, maślan wapnia, *prosięta odsadzone*, smakowitość paszy, parametry krwi, morfometria jelit, obraz histologiczny narządów, *Escherichia Coli*, zonulina w surowicy

ABSTRACT

The effect of butyric acid salts on feed palatability, growth performance and gut health in weanling piglets

Anna Woźniakowska, MSc, Eng.

The aim of this study was to investigate the effect of butyric acid salts on growth performance, blood hematological and biochemical parameters, *Escherichia coli* counts in the duodenum, intestinal morphometry, histology of selected organs and feed palatability in weaned piglets.

Two experiments involving a total of 72 piglets (Polish Large White x Duroc) weaned at 28 days of age were conducted during the study. In both experiments, piglets received a basal diet (control group - C) or diets supplemented with 4000 mg/kg of sodium butyrate (C+SB), 2000 mg/kg of coated sodium butyrate (C+SBE), and 2000 mg/kg of a blend of coated calcium butyrate and sodium butyrate (C+CBSBC) (*ad libitum* access to feed and water).

In the first 8-d experiment, 32 piglets (selected by the method of analogues in terms of origin, body weight and gender) were divided into 4 treatment groups (n=8), with 4 replicates per group and 2 piglets per replicate, to determine the effect of sodium butyrate on feed palatability. The animals received one of the four experimental diets according to the 4x4 Latin Square design. The diets were fed to piglets 4 times a day, at 8.00 a.m., 11.00 a.m., 2.00 p.m. and 5.00 p.m., by the single stimulus method, with free access to one of the diets for 20 minutes during each feeding session (*ad libitum* access to water). Feed intake was monitored daily. Piglets were weighed on days 1 and 8.

The four diets used in the first experiment were also administered to piglets in the second 28-d experiment (*ad libitum* access to feed and water); 40 piglets (selected by the method of analogues in terms of origin, body weight and gender) were weighed and assigned to 4 treatment groups (n=10), with 5 replicates per group and 2 piglets per replicate. The piglets were weighed individually at weekly intervals. The amounts of feed offered and consumed per pen were recorded daily. Blood samples were collected for hematological (WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, NEUT, LYM, MONO, EOS, BASO, IG) and biochemical (TC, HDL, LDL, TG, GLU) analyses on the last day of the experiment (from 6 animals in each group). Serum zonulin concentration

(a marker of intestinal permeability) was analyzed using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. At 57 days of age, the piglets (6 animals from each group) were slaughtered. Duodenal digesta samples were collected for analysis, and the *most-probable-number* of *Escherichia coli* was determined. Tissue samples of the intestines (duodenum, jejunum, ileum, colon), stomachs, livers, pancreases and kidneys were collected for analysis. Intestinal morphometry and the histology of selected organs were evaluated. The results were processed statistically by one-way analysis of variance (ANOVA) with the use of Statistica StatSoft 13.3. software and Tukey's post hoc test. All data are presented as means \pm SE. Differences were considered to be significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$.

The analyzed additives had no effect on feed palatability. Sodium butyrate in the amount of 4000 mg/kg of feed significantly influenced the final body weight of piglets ($P \leq 0.05$). The highest total body weight gains were observed in all piglets receiving diets supplemented with sodium butyrate (C+SB) and a blend of coated calcium butyrate and sodium butyrate (C+CBSBC), with no effect on average daily feed intake. The addition of 4000 mg/kg of sodium butyrate had a more beneficial influence ($P \leq 0.05$) on total body weight gains than the addition of 2000 mg/kg of coated sodium butyrate. Differences ($P \leq 0.05$) in the serum levels of total cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides were noted in two groups. The addition of 2000 mg/kg of coated sodium butyrate decreased total cholesterol concentration. Moreover, a blend of coated calcium butyrate and sodium butyrate as well as coated sodium butyrate, both at 2000 mg/kg, decreased the serum levels of HDL cholesterol and triglycerides. The applied additives led to an increase in glucose levels above the normal reference range. The addition of butyric acid salts had no significant effect on the blood hematological parameters of piglets, but some of their average values were beyond the normal physiological ranges for the species. Sodium butyrate increased the white blood cell count (WBC) and the percentage of monocytes (MONO). The inclusion of sodium butyrate and a blend of coated calcium butyrate and sodium butyrate in piglet diets decreased mean corpuscular hemoglobin (MCH) levels. In addition, coated sodium butyrate and a blend of coated calcium butyrate and sodium butyrate caused thrombocytopenia. Coated sodium butyrate contributed to increasing the thickness of the smooth muscle layer in the stomach ($P \leq 0.01$). Dietary supplementation with sodium butyrate and coated sodium butyrate led to an increase ($P \leq 0.05$) in the thickness of the muscle layer in the ileum. Moreover, the applied feed additives significantly ($P \leq 0.01$ and $P \leq 0.05$) increased the length of

duodenal villi, with no effect on crypt depth. A significant ($P \leq 0.05$) increase in the length of intestinal villi was also observed in the jejunum in response to sodium butyrate. Butyric acid derivatives added to piglet diets alleviated morphological changes in the stomach and duodenum. All additives caused an increase in the number of intraepithelial lymphocytes (IEL) in the duodenum and jejunum, which indicates that they stimulated the immune response. Normal histology of the liver and kidneys was observed after the administration of sodium butyrate and coated sodium butyrate. The tested additives did not affect *Escherichia coli* counts in the duodenum of experimental animals. Blood zonulin concentration decreased in experimental groups, but the decrease was not statistically significant.

Key words: sodium butyrate, calcium butyrate, *weanling piglets*, feed palatability, blood parameters, intestinal morphometry, organ histology, *Escherichia coli*, serum zonulin