

Een prebioticum voor de darmgezondheid bij rundvee

Calciumgluconaat als prebioticum voor de darmgezondheid bij melkvee

Albert-Jan Polinder

12-8-2023



Een prebiotikum voor de darmgezondheid bij rundvee

Calciumgluconaat als prebiotikum voor de darmgezondheid bij melkvee

12-08-2023

Opdrachtgever:

Aeres Hogeschool Dronten
T.n.v. G. Roelofs
De Drieslag 4
8251 JZ Dronten
g.roelofs@aeres.nl

Begeleidend bedrijf:

P. Bos veevoerders
T.n.v. E. Roordink
Hoofdweg 144
6744 WP Ederveen
eroordink@pbosveevoerders.nl

Auteur:

Albert-Jan Polinder
Nassaulaan 31
8071 ND Nunspeet
3034490@aeres.nl

DISCLAIMER

Dit rapport is gemaakt door een student van Aeres Hogeschool als onderdeel van zijn/haar opleiding. Het is géén officiële publicatie van Aeres Hogeschool. Dit rapport geeft niet de visie of mening van Aeres Hogeschool weer. Aeres Hogeschool aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor enige schade voortvloeiend uit het gebruik van de inhoud van dit rapport.

Voorwoord

Dit rapport dat voor u ligt, is een onderzoeksrapport over de werking van pensbestendig calcium gluconaat. Het onderzoek is uitgevoerd naar aanleiding van een scriptieopdracht voor de Aeres hogeschool in Dronten in combinatie met de vraag naar een praktijkproef vanuit P. Bos veevoeders. Dit onderzoek is uitgevoerd en bestemd voor melkveehouders, P. Bos veevoeders en andere geïnteresseerden. Tijdens dit onderzoek ben ik begeleid door de heer G. Roelofs van de Aeres hogeschool in Dronten en door de heer E. Roordink vanuit P. Bos veevoeders. Ik wil hen beiden hartelijk danken voor hun hulp en begeleiding.

Albert-Jan Polinder

Nunspeet, 12 Juni 2023

Inhoud

Voorwoord	2
Samenvatting.....	5
Summary	6
1. Inleiding	7
1.1 Aanleiding.....	7
1.2 Vertering van een herkauwer.....	8
1.3 Het effect van een slechte darmgezondheid	8
1.4 Permeabiliteit van de darmwand	9
1.5 Invloed van (calcium) gluconaat.....	12
1.6 Vraagstelling bij de werkzaamheid van calciumgluconaat.....	12
1.7 Relevantie en hypothese	12
2 Materiaal en methode.....	13
2.1 Materiaal	13
2.1.1 Product	13
2.1.2 Mengvoerbedrijf.....	13
2.1.3 Testbedrijven.....	13
2.1.4 Dosering proefproduct	14
2.2 Methode	15
2.2.1 Wat is het effect van calciumgluconaat op de meetmelkproductie van het melkvee?	15
2.2.2 Wat is het effect van calciumgluconaat op het vet- en eiwitgehalte in de melk?	15
2.2.3 Wat is het effect van calciumgluconaat op het celgetal in de melk?	16
3 Resultaten.....	17
3.1 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op de meetmelkproductie van het melkvee?	17
3.2 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het vet- en eiwitgehalte in de melk?	18
3.2.1 Vet	18
3.2.2 Eiwit	19
3.3 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het celgetal in de melk?	21
4 Discussie	22
4.1 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op de meetmelkproductie van het melkvee?	22
4.2 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het vet- en eiwitgehalte in de melk?	24

4.3	Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het celgetal in de melk?	26
4.4	Praktische toepassing.....	27
4.5	Aanbevelingen voor vervolgonderzoek.....	28
5	Conclusie en aanbevelingen.....	29
	Literatuurlijst	30
	Bijlage: Statistische testen.....	33
	Meetmelk	33
	Celgetal	36
	Gecorrigeerd vet%.....	38
	Gecorrigeerd eiwit%.....	41
	Gecorrigeerde dagvetproductie	44
	Gecorrigeerde dageiwitproductie	47

Samenvatting

De toekomst van de Nederlandse melkveehouderij draait om het houden van een duurzame veestapel. Goede gezondheid van de veestapel en een lange levensduur zijn hiervoor van groot belang. Darmgezondheid speelt een belangrijke rol in de algehele gezondheid van het dier. De darmen zijn namelijk verantwoordelijk voor 20% van het totale zuurstofverbruik in het dier. Ook zorgen de darmen voor zo'n 30% van de energievoorziening in de koe. Bovendien vindt in de dikke darm zo'n 15% van de totale fermentatie plaats, wat door microbiota wordt uitgevoerd.

Een mogelijke oorzaak voor een verstoorde darmgezondheid is verzuring. Verzuring van de darmen ontstaat vaak door een overmaat van zetmeel in de darmen. Hierdoor daalt de pH, wat resulteert in een onbalans van de microbiota in de darmen. Deze onbalans zorgt voor meer endotoxines en pathogene bacteriën in de darm, wat kan resulteren in het verbreken van de tight junctions tussen de darmwandcellen. Dit kan vervolgens leiden tot een lekkende darm met als gevolg dat schadelijke moleculen de darmwand kunnen passeren, in het bloed terecht komen en vervolgens een afweerreactie opwekken. Uit onderzoek blijkt dat een afweerreactie een grote hoeveelheid glucose kost.

Het korte keten vetzuur Butyraat speelt een belangrijke rol in de darmgezondheid. Dit vetzuur zorgt voor de groei van epitheelcellen, stimulatie van spiergroei, absorptie van mineralen en water en het in stand houden van de tight junctions. Stimulatie van butyraat productie in de darmen heeft dus een positieve invloed op de darmgezondheid. In de mengvoerindustrie is hiervoor pensbestendig calciumgluconaat ontwikkeld. Dit stimuleert de goede bacteriën in de darm en daarmee de butyraat productie in de darmen. Het product is getest op testbedrijven en in andere diersoorten, maar niet in de praktijk op commerciële melkveebedrijven in Nederland. Daarvoor is in dit onderzoek een praktijkproef opgezet op 7 melkveebedrijven die klant zijn van P. Bos veevoerders. Deze proef kent een voorperiode, een proefperiode en een naperiode. Tijdens de proefperiode van 8 weken is het calciumgluconaat aan de hele melkveestapel gevoerd. Vervolgens zijn de meetmelkproductie, de gehalten vet en eiwit en het celgetal geanalyseerd. Er is gekeken of er een verschil aantoonbaar is tussen de proefperiode en de voor- en naperiode. Uit het onderzoek blijkt dat er op bedrijfsniveau geen significante verschillen aangetoond kunnen worden. Toch zijn er in de vertering wel veranderingen waargenomen, zoals minder dunne mest en minder onverteerd zetmeel in de mest. Ook laat de BSK van de verse koeien een verhoging zien tijdens de proefperiode.

Summary

In the future, it will become more and more important for the Dutch dairy industry, to have a sustainable herd. Therefore it is important that the herd is healthy and has a long average lifespan. Gut health plays an important role in the overall health of the animals. The guts use about 20% of the animals oxygen consumption and are responsible for about 30% of the energy supply in the cow. Besides this is around 15% of fermentation located in the hindgut which is done by means of microbiota.

A possible cause of lower gut health can be acidification. This is most often the result of an excess of starch which is not digested in the rumen but passes through and arrives in the guts. This results in a drop of the pH and followed by this a disbalance in microbiota occurs. This disbalance is the cause of more endotoxins and pathogens in the gut that can cause damage to the tight junctions. When these are broken it can result in a leaky gut which can be the cause of a immune response in the body. Research shows that an immune response costs an enormous amount of glucose.

The short chain fatty acid Butyrate causes grow of epithelial cells, stimulation of muscle growth, absorption of minerals and water and maintenance of strong tight junctions. Stimulation of the production of butyrate in the gut will thus have a positive influence of the animals' health. The compound feed industry has developed a rumen resistant calciumgluconate which stimulates the right bacteria's in the guts and results in more butyrate production. Due to a lack of tests at commercial dairy farms, this research was set up at 7 dairy farms, which are customers of P. Bos animal feeds. The experiment was divided in 3 periods, namely the fore-period, the testperiod and the afterperiod. During the test period of 8 weeks, the calciumgluconate was fed tot all the cows. Afterwards the liters of milk, the levels of fat and protein and the cell count were analysed to see whether there is a difference visible between the testperiod and the other periodes. The research shows that on farmlevel no significant changes are visible. Even though there were some changes in digestion visible in the manure, like less manure which is too thin and less undigested starch in the manure. As well as the BSK of the fresh cows which was higher during the testperiod, compared to the other 2 periods.

1. Inleiding

1.1 Aanleiding

De toekomst van de Nederlandse melkveehouderij draait om het houden van een duurzame veestapel die lang rendement levert (Dallago et al., 2020). Om dit te bereiken is het noodzakelijk een zo hoog mogelijke levensdagproductie per koe te behalen. De levensdagproductie van een koe is de totale levensproductie, gedeeld door het aantal dagen van geboorte tot afvoer (Trouw nutrition, z.d.). Om een hogere levensdagproductie te bereiken is het van belang om de dagproductie en de levensduur van het melkvee te verhogen. Onderzoeksbureau Valacon heeft het bedrijfseconomische effect eens berekend van verhoging van de gemiddelde leeftijd van 4 naar 5 jaar op een melkveebedrijf met 100 melkkoeien. Hierbij stijgt dan de gemiddelde leeftijd bij afvoer met een jaar en vier maanden. Dit levert een dergelijk bedrijf zo'n €56.000 per jaar op (melkvee100plus.nl, 2019).

In figuur 1 is te zien dat de gemiddelde levensproductie per koe, in de afgelopen 20 jaar, is gestegen met zo'n 13.000 kilogram melk en het aantal afkalvingen is in dezelfde tijd met 0,8 gestegen (Coöperatie CRV, z.d.). Dit betekent dat een melkkoe in Nederland gemiddeld al bijna één keer vaker afkalft dan 20 jaar geleden. Dit heeft als voordeel dat er minder jongvee nodig is voor vervanging, waardoor kosten en emissies bespaard worden (Dallago et al., 2020). Een hoger aantal afkalvingen brengt echter ook risico's met zich mee. Een koe die vaker afkalft, moet dan ook vaker door de transitieperiode heen. Dit is een risicovolle periode die gepaard kan gaan met diverse metabole aandoeningen zoals melkziekte en ketose. Bovendien ontstaan in deze periode van de lactatie de meeste verteringsproblemen zo blijkt uit een review van Mulligan, F. en Doherty, M. (2008). Deze onderzoekers hebben een review geschreven over productie gerelateerde aandoeningen bij transitiekoeien. Uit de verzameling van literatuur blijkt dat in de transitieperiode de meeste metabole aandoeningen en nutritionele aandoeningen ontstaan, en dat deze nog een lange nasleep kunnen hebben.

jaar afvoer	aantal dieren	aantal keren gekalfd	melkdagen totaal	dagen levensduur	kg melk per melkdag	levensproductie kg vet + eiwit	levensproductie kg melk
2022	237.267	3,9	1.278	2.233	29,3	2.971	37.401
2021	245.965	3,7	1.228	2.180	29,0	2.826	35.624
2020	240.216	3,6	1.183	2.132	28,7	2.691	34.000
2019	233.374	3,4	1.108	2.052	28,5	2.491	31.553
2018	318.712	3,4	1.080	2.025	28,1	2.395	30.343
2017	354.451	3,4	1.084	2.035	27,5	2.354	29.845
2016	286.347	3,5	1.129	2.092	27,4	2.440	30.967
2015	251.551	3,5	1.130	2.097	27,3	2.430	30.868
2014	269.883	3,5	1.134	2.106	27,4	2.443	30.999
2013	230.781	3,4	1.128	2.101	27,3	2.427	30.751
2012	247.359	3,4	1.116	2.092	27,4	2.406	30.536
2011	269.072	3,4	1.112	2.093	27,3	2.386	30.318
2010	259.095	3,5	1.126	2.114	27,1	2.398	30.482
2009	265.858	3,5	1.138	2.128	26,8	2.406	30.543
2008	216.179	3,5	1.169	2.164	26,3	2.430	30.777
2007	227.656	3,5	1.136	2.135	26,3	2.359	29.851
2006	241.679	3,4	1.108	2.109	26,0	2.282	28.845
2005	269.862	3,3	1.071	2.067	25,9	2.190	27.701
2004	274.508	3,3	1.057	2.051	25,6	2.140	27.080
2003	237.945	3,2	1.037	2.028	25,4	2.083	26.358
2002	296.633	3,2	1.004	1.992	25,3	2.004	25.401
2001	228.102	3,2	990	1.983	25,2	1.970	24.980
2000	301.375	3,1	967	1.957	24,9	1.895	24.044

Figuur 1 Levensproductie van Nederlandse stamboekkoeien (Coöperatie CRV, z.d.)

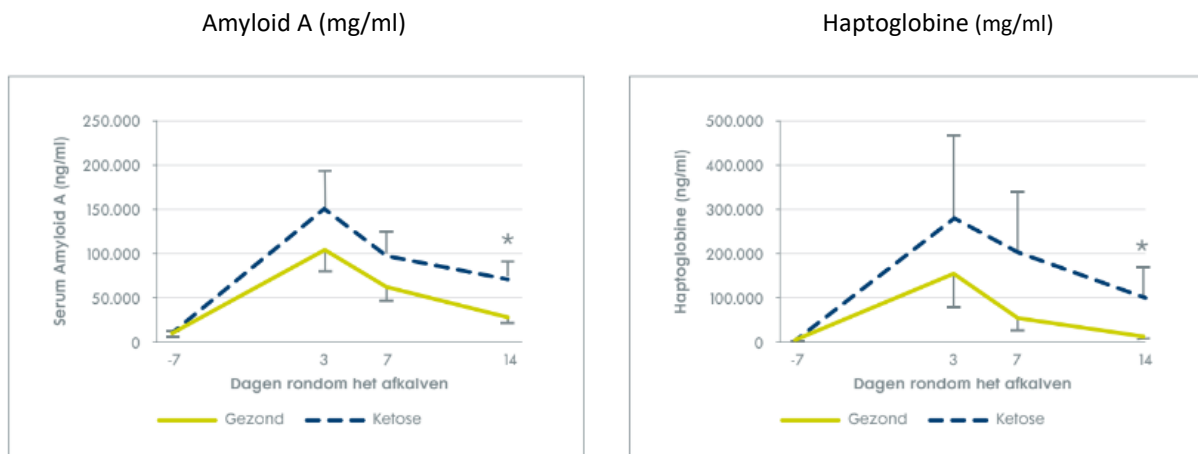
1.2 Vertering van een herkauwer

Verteringsproblemen kunnen onder andere te maken hebben met de magen of de darmen van de koe. Dit onderzoek zal in gaan op de voedselvertering in de darmen. De darmen spelen namelijk een belangrijke rol in de herkauwer, aangezien de darmen in de eerste plaats een ondoordringbare barrière moeten vormen voor potentieel pathogene bacteriën. Mede omdat de darm, net als de huid, een scheiding vormt tussen het interne en externe milieu (Sanz-Fernandez, 2020). Ook zijn de darmen verantwoordelijk voor zo'n 20% van het totale zuurstofgebruik in het dier. Daarnaast zorgen de darmen voor zo'n 30% van de energievoorziening in het dier (Steele et al, 2016). In de darmen vindt een groot gedeelte van de absorptie van nutriënten plaats, waaronder de aminozuren, vetten, mineralen en vitamines in de dunne darm en een deel van de vluchtige vetzuren in de dikke darm. Een deel van de opgenomen aminozuren wordt direct in de darmen weer gebruikt voor vernieuwing van de darmwand en het darmslijmvlies. In de dikke darm vindt bovendien nog een stuk fermentatie plaats van substraat wat de pens gepasseerd is (Xu et al, 2021). Deze fermentatie maakt zo'n 15 procent uit van de totale fermentatie in de koe (Bannink, A., Dijkstra, J., Koopmans, S.J., 2018). Fermentatie vindt plaats door middel van microbiota die in de darm aanwezig is. Deze microbiota bestaat uit diverse soorten bacteriën, archaea, protozoa en schimmels (Xu et al, 2018). Een goede darmgezondheid en een juiste balans in microbiota zijn dus van groot belang voor de gezondheid en het welzijn van herkauwers (Sanz-Fernandez, 2020).

1.3 Het effect van een slechte darmgezondheid

Een verstoorde darmgezondheid heeft diverse negatieve effecten op het dier. Uit onderzoeken van Abuajamieh et al, (2016) Mezzetti et al (2019) en Sanz-Fernandez et al (2018) blijkt bijvoorbeeld dat een verstoorde darmgezondheid een goede voorspeller kan zijn voor ketose-incidentie. In alle drie de onderzoeken zijn de ontstekingswaarden in het bloed onderzocht bij Holstein koeien rondom afkalven. Hierbij is een scheiding gemaakt tussen gezonde koeien en koeien die na het afkalven klinische ketose verschijnselen hadden zonder enige andere ziekte. Hierbij werd elke koe met ketose gekoppeld aan een gezonde koe die rond het zelfde moment gekalfd had om omgevingsfactoren uit te sluiten. Aan alle koeien in de proeven werd een Total Mixed Ration (TMR) rantsoen gevoerd. Vervolgens is er een vergelijking opgesteld tussen de koeien met en zonder klinische ketose-verschijnselen waarbij gekeken is naar de ontstekingswaarden. Het bleek dat in zowel gezonde koeien als in koeien met klinische ketose de ontstekingswaardes Amyloid A en Haptoglobine al voor het afkalven verhoogd waren. Echter blijkt ook dat de koeien die na afkalven leden aan ketose, significant verhoogde ontstekingswaarden in het bloed hadden ten opzichte van gezonde koeien zoals te zien is in figuur 2 op de volgende pagina. De exacte bron voor deze hogere ontstekingswaarden is lastig aan te tonen. Door middel van het uitsluiten van andere bronnen, zoals de baarmoeder en het uier kwamen de onderzoekers bij de darmen als oorzaak voor de hogere ontstekingswaarden in het bloed. Dit zou een logisch gevolg kunnen zijn van een verhoogde permeabiliteit van de darmwand waarover later in deze inleiding meer volgt.

Figuur 2 Ontstekingswaardes Serum Amyloid A en Haptoglobine in gezonde koeien en koeien met ketose (Abuajamieh et al, 2016; Trouw nutrition, z.d.).

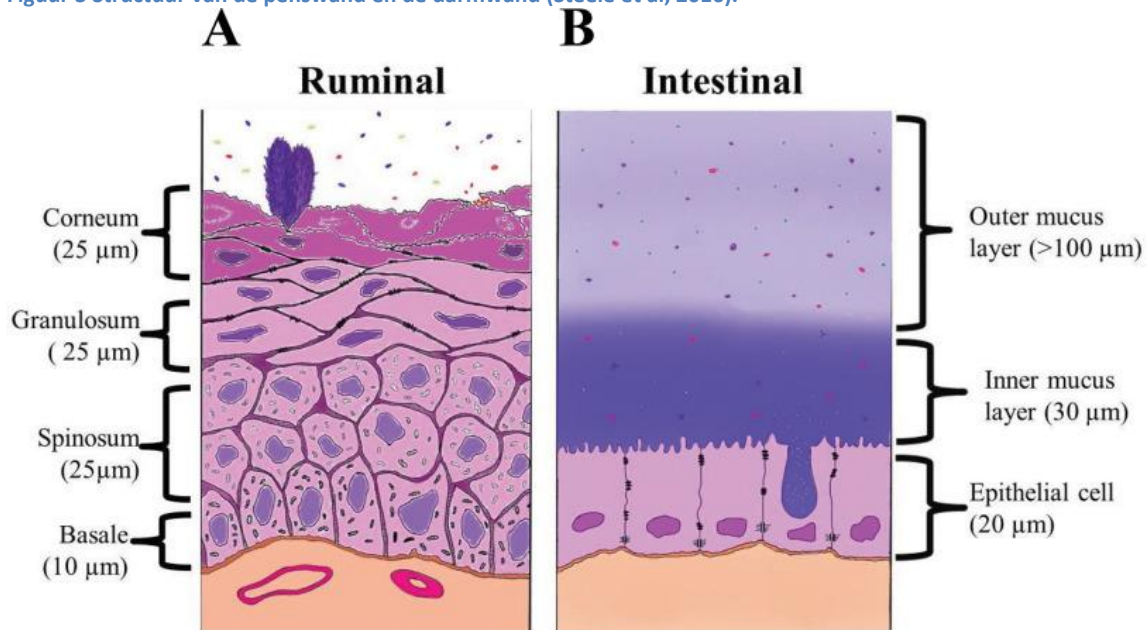


Een oorzaak voor verstoorde darmgezondheid kan verzuring van de darm zijn. Verzuring van de dikke darm heeft een negatief effect op het dier. Zo daalt de voeropname evenals de melkproductie. Ook worden nutriënten minder goed opgenomen in het bloed, wat voor meer verlies van nutriënten zorgt (Plaizier et al., 2018). Verzuring van de darm wordt vaak veroorzaakt door een overmaat van zetmeel in de dikke darm. Zetmeel dat in de dikke darm gefermenteerd wordt, zorgt voor een daling van de pH in de dikke darm. Dit resulteert in een onbalans in microbiota. De amylolytische bacteriën krijgen hierbij de overhand over de proteolytische en fibrolytische bacteriën. Deze onbalans zorgt ook voor meer endotoxines en pathogene bacteriën in de darm die de darmwand beschadigen (Plaizier et al., 2018).

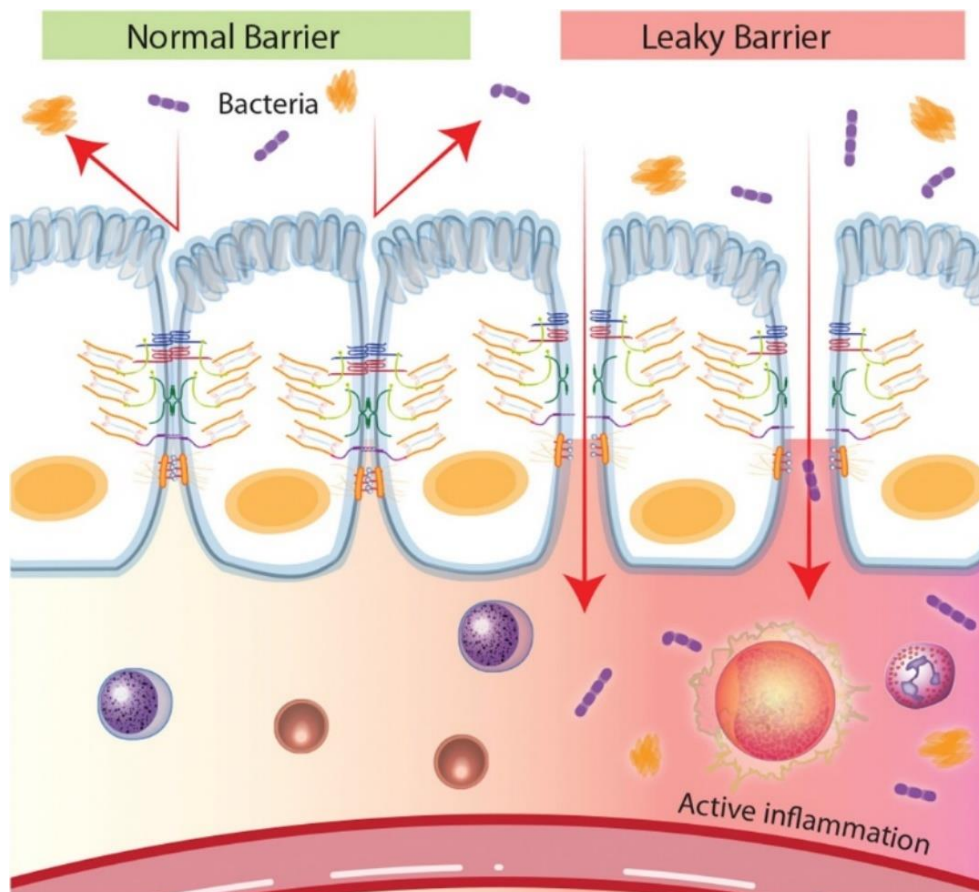
1.4 Permeabiliteit van de darmwand

De beschadigingen aan de darmwand door de lagere pH en een verhoging van endotoxines en pathogene bacteriën in de darminhoud zorgt voor dunne mest, ongemak voor het dier, slechtere opname van nutriënten en een lagere productie (Sanz-Fernández et al., 2020). Verzuring in de dikke darm lijkt schadelijker voor het dier te zijn dan pensverzuring. Dit heeft te maken met de verschillende structuren van de wanden van de pens en de dikke darm zoals te zien is in figuur 3 op de volgende pagina. De enkele epitheellaag van de darmwand is gevoeliger voor een lage pH en bacteriële componenten dan de gelaagde bekleding van de pens. Dit ondanks het beschermende effect van de slijm laag in de colon, die mist in de pens. Fysiologisch gezien is de buffercapaciteit van de dikke darm beperkt in vergelijking met de pens waar speeksel en protozoa de pH fluctuaties moduleren. Een gezonde darmwand verbindt cellen door middel van tight junctions. In het geval van een lekkende darmwand zijn deze tight junctions verbroken. Dit zorgt ervoor dat er schadelijke moleculen de darmwand kunnen passeren en in het bloed terecht komen. Dit fenomeen wordt ook wel 'lekkende darm' of 'Leaky gut' genoemd. De darmwand is hierbij zo beschadigd dat het niet meer in staat is om ziekteverwekkers tegen te houden zoals in figuur 4, op de volgende pagina, geïllustreerd is (Stewart et al, 2017). Ziekteverwekkers, met name Lipopolysachariden (LPS), in het bloed roepen vervolgens een afweerreactie op. LPS zijn grote moleculen bestaande uit een lipide en een polysacharide. Ze komen voor in de buitenmembraan van gramnegatieve bacteriën. Het zijn endotoxinen, die een sterke immuunrespons bij dieren en mensen veroorzaken.

Figuur 3 Structuur van de penswand en de darmwand (Steele et al, 2016).



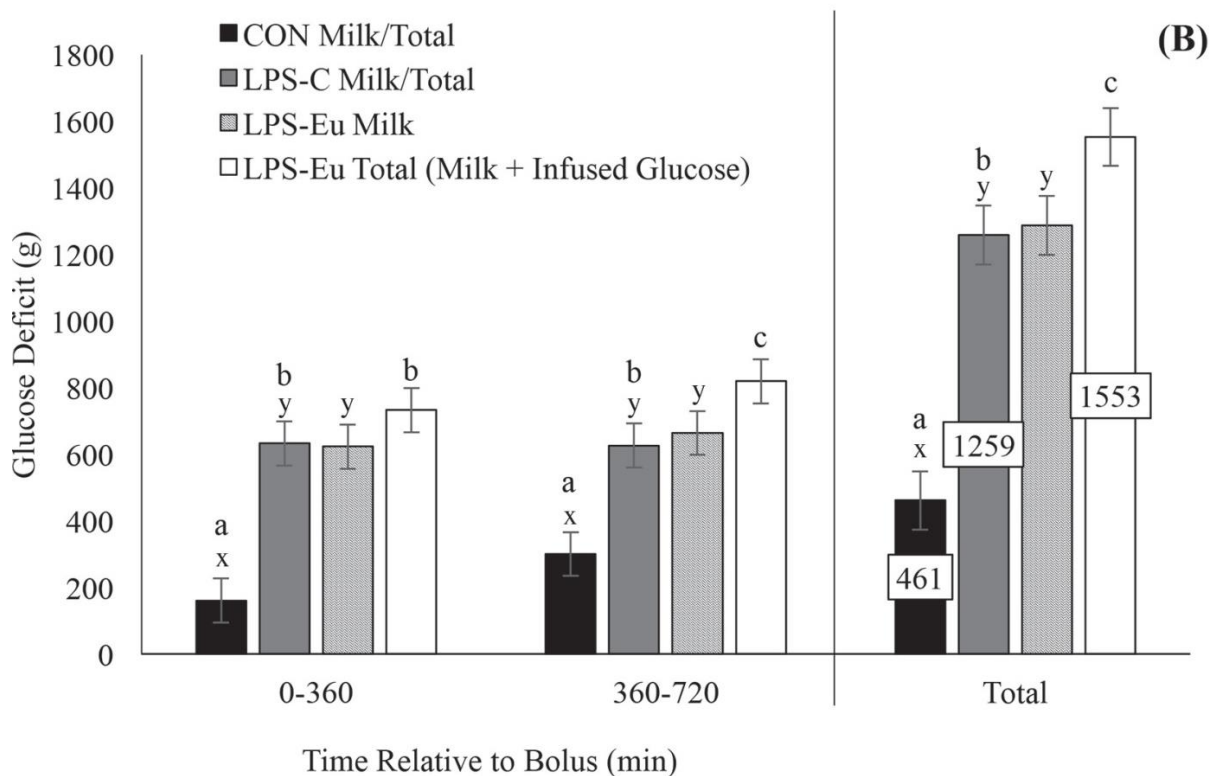
Figuur 4 Illustratie van een gezonde en een lekkende darm (Stewart et al, 2017).



Uit onderzoek van Kvidera et al (2017) blijkt dat een afweerreactie enorm veel glucose kost. In deze studie werd onderzocht hoeveel glucose er door een afweerreactie in het lichaam verbruikt wordt. In dit onderzoek is er in koeien een bolus ingebracht met LPS die een afweerreactie in het dier oproepen. Vervolgens is elke 10 minuten het glucosegehalte in het bloed bepaald. Ook is de melkproductie geanalyseerd en is er in de LPS-EU groep, glucose toegediend om het normale bloed

glucosegehalte te behouden. Uit dit onderzoek blijkt dat een afweerreactie in een Holstein melkkoe binnen 720 minuten al ruim een kilogram glucose kost. Een kilogram melkproductie kost volgens onderzoek van Kronfeld, D.S. (1982) 72 gram glucose. Als een sterke afweerreactie al meer dan een kilogram glucose kost in de eerste 720 minuten, kost dit dus ook al snel veel melk.

Figuur 5 Melk en totaal glucose tekort van 0 tot 720 uur na het toedienen van een bolus die een afweerreactie oproept (Kvidera et al, 2017).



Zoals eerder benoemd zorgen de darmen van een koe voor zo'n 30% van de energievoorziening (Steele et al, 2016). Korte keten vetzuren zijn de eindproducten van de fermentatie in de dikke darm welke vervolgens door de darmwand worden opgenomen in het bloed en deel uitmaken van de energievoorziening van de koe. Butyraat is één van de korte keten vetzuren die een belangrijke rol speelt in de darmen. Melkzuurbacteriën in de darm produceren melkzuur, wat een tussenproduct is voor de butyraat productie. Butyraat heeft diverse functies in de darmen. Zo zorgt het voor de groei van epitheelcellen, de stimulatie van spiergroei, de absorptie van mineralen en water en de preventie van colonkanker (Tsukahara et al, 2006). Bovendien zorgt een tekort aan butyraat in de darm voor beschadiging van de tight junctions. Dit zijn de verbindingen tussen de darmwandcellen. Beschadiging van deze tight junctions of niet voldoende opbouw ervan, resulteert in een lekkende darm wat eerder is beschreven. In diverse diersoorten en de humane gezondheidskunde is uitgebreid onderzoek gedaan naar de functies van butyraat. Zo is aangetoond dat butyraat de barrièrefunctie van de darmwand stimuleert en ontstekingsremmend werkt (Biggs & Parsons, 2008, Han et al., 2018). Ook zorgt het voor een betere genexpressie (Zhang et al., 2021; Archer et al., 1998), is het een energiebron voor de darmwand (Biggs & Parsons 2008, Han et al., 2018) en heeft het een positieve invloed op het vetzuurmetabolisme (Inan et al., 2000; Schwab et al., 2007; Seymour et al., 2021, Zhang et al., 2021). Het is dus van groot belang om voldoende butyraat productie te hebben in de dikke darm. Onderzoek naar de functies van butyraat in de darmen is in melkvee echter een stuk

minder uitgebreid. Daarom is vanuit de veevoederindustrie de vraag ontstaan of het ook zo werkt bij melkvee. In de mengvoerindustrie is hiervoor onder andere een pens bestendig calciumgluconaat ontwikkeld.

1.5 Invloed van (calcium) gluconaat

Calciumgluconaat is een verbinding tussen het anion gluconzuur en het kation calcium. Gluconzuur is het product van de dehydrogenatie van glucose (Seymour et al, 2021). Glucose wordt omgezet in glucono-delta-lacton en waterstofperoxide. Glucono-delta-lacton wordt vervolgens gehydrolyseerd tot gluconzuur onder invloed van het lacton hydrolyserend enzym. Onder optimale omstandigheden wordt bijna 100% van de beschikbare glucose omgezet in gluconzuur (Ramachandran et al., 2006). Dit gevormde anion gluconzuur kan in verbinding gaan met diverse kationen om het gevormde zuur te neutraliseren. Calcium is een van de kationen waar een verbinding mee gevormd kan worden, wat calciumgluconaat wordt genoemd. Gluconaat wat in de darmen aankomt, stimuleert de melkzuurbacteriën. Deze bacteriën gaan onder invloed van gluconaat meer melkzuur en azijnzuur vormen. Dit kan vervolgens omgezet worden in butyraat waarvan de effecten in een eerdere paragraaf zijn beschreven (Seymour et al, 2021).

1.6 Vraagstelling bij de werkzaamheid van calciumgluconaat

Er is veel bestaand onderzoek naar de functie van butyraat in de darmen van diverse diersoorten, evenals in de humane gezondheidszorg. Zoals eerder benoemd is dit een stuk minder bij melkvee. In een aantal onderzoeken die als bron gebruikt zijn in dit literatuuronderzoek, zijn ook proeven uitgevoerd. Deze proeven vonden echter in het buitenland of op proefbedrijven plaats. Echter kunnen externe omstandigheden, zoals rantsoen, huisvesting, stress en klimaat ook van grote invloed zijn op de werking van een product. Het is daarom niet bekend of calciumgluconaat in de praktijk op commerciële melkveebedrijven in Nederland hetzelfde effect heeft als in de literatuur beschreven staat. Hieruit volgt de hoofdvraag van het onderzoek: Wat is de invloed op melkvee van het voeren van pensbestendig calciumgluconaat?

Om deze vraag te kunnen beantwoorden zijn de volgende deelvragen opgesteld:

- 1 *Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op de meetmelkproductie van het melkvee?*
- 2 *Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het vet- en eiwitgehalte in de melk?*
- 3 *Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het celgetal in de melk?*

1.7 Relevantie en hypothese

Het effect van pens bestendig calcium gluconaat is van belang om te weten, gelet op het feit dat het van invloed is op diverse terreinen. Zo heeft een verhoging van de melkproductie of gehalten een invloed op de inkomsten van de veehouder. Een verlaging van het celgetal is van invloed op de gezondheid van de dieren, eventuele kwaliteitstoelagen op de melk en daarmee ook de inkomsten van de veehouder. Als de dieren gezonder zijn, zullen er minder diergezondheidskosten gemaakt moeten worden wat kostenbesparend werkt. Het onderzoek is dus met name relevant voor veehouders en veevoerproducenten.

De hypothese die op de onderzoeksvraag volgt is: Calciumgluconaat is als prebioticum technisch gunstig voor melkopbrengst en celgetal.

2 Materiaal en methode

2.1 Materiaal

2.1.1 Product

Trouw Nutrition is een van de bedrijven die onderzoek zijn gestart naar darmgezondheid en butyraat productie. Het bedrijf heeft hiervoor een product ontwikkeld met de naam 'Lactibute'. Dit product bestaat uit calciumgluconaat wat is verpakt in een vetcoating. De vetcoating om het product zorgt ervoor dat het product niet in de pens wordt afgebroken, maar doorstroomt naar de lebmaag waar de coating opgelost wordt. Vervolgens stroomt het product door naar de darmen en komt pas daar beschikbaar (Rossie et al., 1999). Trouw Nutrition heeft van dit product, op basis van gedaan onderzoek, de volgende verwachtingen (Trouw Nutrition (z.d.):

- Ondersteuning van de darmgezondheid
- Betere benutting van energie en eiwit
- Hogere vet- en eiwitproductie
- Weerbare koeien
- Gezondere veestapel

2.1.2 Mengvoerbedrijf

Om het product te kunnen testen zijn er Nederlandse melkveebedrijven nodig. Het product Lactibute wordt echter alleen via mengvoerbedrijven aan veehouders verkocht. P. Bos veevoeders is een klant/wederverkoper van Trouw nutrition en daarmee ook in staat om Lactibute in te kopen en te distribueren. Vanuit P. Bos veevoeders leefde eveneens de vraag wat het effect is van een pens bestendig calciumgluconaat bij melkvee. Dit was de reden om in samenwerking met P. Bos veevoeders de proef te gaan uitvoeren.

2.1.3 Testbedrijven

Om het product te kunnen testen wordt er een aantal melkveebedrijven geselecteerd uit de klanten van P. Bos veevoeders. Deze melkveebedrijven moeten aan de volgende voorwaarden voldoen:

- Voeren een constant rantsoen
- Hebben melkmetingen iedere melkbeurt of robotdata
- Melk Productie Registratie deelname
- Melkleveranties inzichtelijk
- Geen weidegang of pas laat starten met weiden/starten met weiden na de eerste snede
- Melkproductieniveau boven 8500 kg melk per koe per jaar

Deze voorwaarden zijn gesteld om zoveel mogelijk variaties tijdens de proefperiode te voorkomen en ook om andere factoren die van invloed kunnen zijn op de te onderzoeken onderwerpen zoveel mogelijk uit te sluiten. Ook is een minimaal productieniveau ingesteld omdat bedrijven met een lagere productie niet zo veel zetmeel voeren dat de verwachting is dat er een overmaat doorstroomt naar de darmen met verzuring als gevolg.

Deelname aan MPR is als voorwaarde gesteld omdat op deze manier ook dieren en groepen dieren vergeleken kunnen worden aan de hand van de BSK (Bedrijf Standaard Koe). De BSK van een melkveestapel of deel ervan wordt gebaseerd op de Individuele Standaardkoe (ISK). De ISK geeft van iedere individuele koe de dagproductie in kilogrammen melk weer op de dag van monsternamen.

Hierbij wordt de melkgift omgerekend naar de productie die het dier zou hebben gerealiseerd op 50 dagen in lactatie, na afkalven in februari of maart op een leeftijd van 69 tot 92 maanden. Door de correctie voor leeftijd, seizoen van afkalven en lactatiestadium is de ISK van verschillende monsternames vergelijkbaar. De gemiddelde ISK van alle melkgevende dieren in de koppel is de BSK. Dit kengetal is een maatstaf voor het gemiddelde productieniveau op het moment van de monsternamen en kan worden gebruikt om schommelingen in productie te signaleren. De BSK kan ook worden weergegeven voor groepen dieren, bijvoorbeeld op basis van leeftijd of lactatiestadium (CRV, 2020).

2.1.4 Dosering proefproduct

Per bedrijf is vervolgens voor elke koe 2,8 kilogram (kg) Lactibute topdress nodig. Dit omdat er per koe 16 gram lactibute per dag gevoerd moet worden. Het product is op een drager gezet wat een top dressing wordt genoemd. Van deze top dressing moet 50 gram per koe per dag worden gevoerd en dit 56 dagen lang. Deze 56 dagen was een advies van de leverancier, Trouw nutrition, omdat het product tijd nodig heeft voor het goed werkt en optimaal functioneert. In totaal is er voor deze proef 2500 kg lactibute beschikbaar, wat betekent dat er maximaal 892 koeien 56 dagen lang mee gevoerd kunnen worden.

Na selectie van de bedrijven voor deelname aan de proef wordt er op elk bedrijf gelijk na een melkproductie registratie (MPR) moment, gestart met het voeren van Lactibute. Dit wordt vervolgens 8 weken gevoerd in een dosering van 50 gram Lactibute top dressing per koe per dag. Lactibute moet door de deelnemende boeren dan met de mineralen in het rantsoen toegevoegd worden. Dit hoeft niet perse in een gemengd rantsoen te zijn, zolang het maar wel op zo'n manier gevoerd wordt dat elke koe praktisch evenveel product per dag krijgt. Dit omdat bij mengen door de mineralen er een grotere kans is op een gelijkmatige verdeling door het rantsoen ten opzichte van het los toevoegen van de Lactibute. Tijdens de periode van voeren worden de productiegegevens verzameld, evenals eventuele bijzondere gebeurtenissen die tijdens die periode hebben plaats gevonden. Hiervoor is een tabel gemaakt voor de deelnemende veehouders om in te vullen met in 1 kolom de datum en de andere kolom ruimte voor het noteren van bijzonderheden. Voor de start van het voeren van Lactibute wordt het bedrijf door de onderzoeker bezocht. Hierbij wordt de veestapel beoordeelt en wordt er een mengmonster van de mest gezeefd. Tijdens de proefperiode wordt dit nog tenminste éénmaal herhaald en na afloop nog eens. Na 56 dagen het product gevoerd te hebben, wordt er gestopt met het voeren van Lactibute. Vervolgens wordt er nog 2 weken lang productiedata verzameld. Na afloop van de proef wordt de deelnemende ondernemers, aan de hand van vooraf opgestelde vragen, gevraagd naar de ervaringen tijdens de proefperiode.

2.2 Methode

Na de proefperiode wordt alle data verzameld en geanalyseerd. De benodigde data zijn de gemiddelde melkproductie per koe per dag, het gemiddelde eiwit- en vetgehalte in de melk per dag en het gemiddelde celgetal per dag. Dit wordt per bedrijf apart in een data bestand gezet, om zo per bedrijf alles overzichtelijk te hebben. Daarna worden de benodigde gegevens van alle deelnemende bedrijven in één databestand gezet met in de eerste kolom de bedrijven en in de kolommen ernaast de data, op chronologische volgorde van boven naar beneden. Hierbij heeft elk data onderdeel een eigen kolom. Als eerste kunnen dan de effecten op bedrijfsniveau geanalyseerd worden. Daarna kan ook een analyse gemaakt worden van het gemiddelde van alle deelnemende bedrijven.

2.2.1 Wat is het effect van calciumgluconaat op de meetmelkproductie van het melkvee?

Voor deze deelvraag wordt per bedrijf de gemiddelde meetmelkproductie per bedrijf per dag verzameld. Deze wordt vervolgens opgedeeld in drie periodes, namelijk de periode voor de start van de proef, de proefperiode en de periode na de proef. De voorperiode is 6 weken voorafgaand aan de start van de proefperiode. Er wordt gekozen voor 6 weken omdat de voorperiode dan wel lang genoeg is om plotselinge veranderingen uit te middelen. Daarnaast moet de periode echter niet te lang zijn omdat dan de seizoensinvloeden heel groot zijn en er in een langere periode veel meer dingen kunnen veranderen. Door een periode van 6 weken voorafgaand aan de proef te kiezen als voorperiode, is de periode lang genoeg om een goede referentie te vormen en niet te lang waardoor een vertekend beeld geschetst zou kunnen worden. Dan wordt vervolgens de eerste week na de start en de eerste week na de stop uit de data gehaald om zo afwijkingen tijdens start en stop uit te filteren. Deze gegevens worden vervolgens weer gegeven in een staafdiagram. Met een staafdiagram kan het verschil van de meetmelkproductie tussen de verschillende periodes worden weergegeven. Vervolgens wordt door middel van een statische analyse, een lineair mixed model, in het programma SPSS gekeken of het verschil tussen de proefperiode en de periode ervoor en erna significant is. Hierbij worden als vaste factoren veehouder en de 3 periodes, voor- proef- en naperiode, ingevuld. Daarnaast wordt lactatiedagen ingevuld als co-variabele. Op deze manier kan er gecorrigeerd worden voor invloeden van veehouder en lactatiedagen. Het verschil is significant als p kleiner is dan 0,05. Dit houdt in dat de kans dat de afwijking door toeval is ontstaan, kleiner is dan 0,05.

2.2.2 Wat is het effect van calciumgluconaat op het vet- en eiwitgehalte in de melk?

Voor deze deelvraag worden per bedrijf de gemiddelde gehalten vet en eiwit in de melk op bedrijfsniveau per dag verzameld. Deze worden vervolgens opgedeeld in drie periodes, namelijk de periode voor de start van de proef, de proefperiode en de periode na de proef. De voorperiode is 6 weken voorafgaand aan de start van de proefperiode. Er wordt gekozen voor 6 weken omdat de voorperiode dan wel lang genoeg is om plotselinge veranderingen uit te middelen. Daarnaast moet de periode echter niet te lang zijn omdat dan de seizoensinvloeden heel groot zijn en er in een langere periode veel meer dingen kunnen veranderen. Door een periode van 6 weken voorafgaand aan de proef te kiezen als voorperiode, is de periode lang genoeg om een goede referentie te vormen en niet te lang waardoor een vertekend beeld geschetst zou kunnen worden. Dan wordt vervolgens de eerste week na de start en de eerste week na de stop uit de data gehaald om zo afwijkingen tijdens start en stop uit te filteren. Bovendien moet op dit onderwerp gecorrigeerd worden voor seizoensinvloeden. Dit wordt gedaan door het landelijk verloop in gehalten naast de meetgegevens te leggen. Vervolgens wordt de start van de voorperiode als nulpunt gesteld. Het

verloop in landelijk gemiddelde ten opzichte van het nulpunt moet vervolgens bij de werkelijk gemeten gehalten opgeteld worden om zo te corrigeren voor seizoensinvloeden. Deze gegevens worden hierna weergegeven in een staafdiagram. Met een staafdiagram kan het verschil in de gehalten in de melk tussen de diverse periodes worden weer gegeven. Vervolgens wordt door middel van een statische analyse, een lineair mixed model, in het programma SPSS gekeken of het verschil tussen de proefperiode en de periode ervoor en erna significant is. Hierbij worden als vaste factoren veehouder en de 3 periodes, voor- proef- en naperiode, ingevuld. Daarnaast wordt lactatiedagen ingevuld als co-variabele. Op deze manier kan er gecorrigeerd worden voor invloeden van veehouder en lactatiedagen.

2.2.3 Wat is het effect van calciumgluconaat op het celgetal in de melk?

Voor deze deelvraag wordt per bedrijf het gemiddelde celgetal in de melk per dag verzameld. Deze wordt vervolgens opgedeeld in drie periodes, namelijk de periode voor de start van de proef, de proefperiode en de periode na de proef. De voorperiode is 6 weken voorafgaand aan de start van de proefperiode. Er wordt gekozen voor 6 weken omdat de voorperiode dan wel lang genoeg is om plotselinge veranderingen uit te middelen. Daarnaast moet de periode echter niet te lang zijn omdat dan de seizoensinvloeden heel groot zijn en er in een langere periode veel meer dingen kunnen veranderen. Door een periode van 6 weken voorafgaand aan de proef te kiezen als voorperiode, is de periode lang genoeg om een goede referentie te vormen en niet te lang waardoor een vertekend beeld geschetst zou kunnen worden. Dan wordt vervolgens de eerste week na de start en de eerste week na de stop uit de data gehaald om zo afwijkingen tijdens start en stop uit te filteren. Deze gegevens worden vervolgens weergegeven in een staafdiagram. Met een staafdiagram kan het verschil van het celgetal over de verschillende periodes worden weer gegeven. Vervolgens wordt door middel van een statische analyse, een lineair mixed model, in het programma SPSS gekeken of het verschil tussen de proefperiode en de periode ervoor en erna significant is. Hierbij worden als vaste factoren veehouder en de 3 periodes, voor- proef- en naperiode, ingevuld. Daarnaast wordt lactatiedagen ingevuld als co-variabele. Op deze manier kan er gecorrigeerd worden voor invloeden van veehouder en lactatiedagen.

3 Resultaten

In tabel 1 zijn de 7 bedrijven kort weergegeven die deelgenomen hebben aan de proef. Hierbij zijn de belangrijkste bedrijfsgegevens overzichtelijk gemaakt.

Tabel 1 Overzicht van de belangrijkste bedrijfsgegevens van de bedrijven die deelnamen aan de proef.

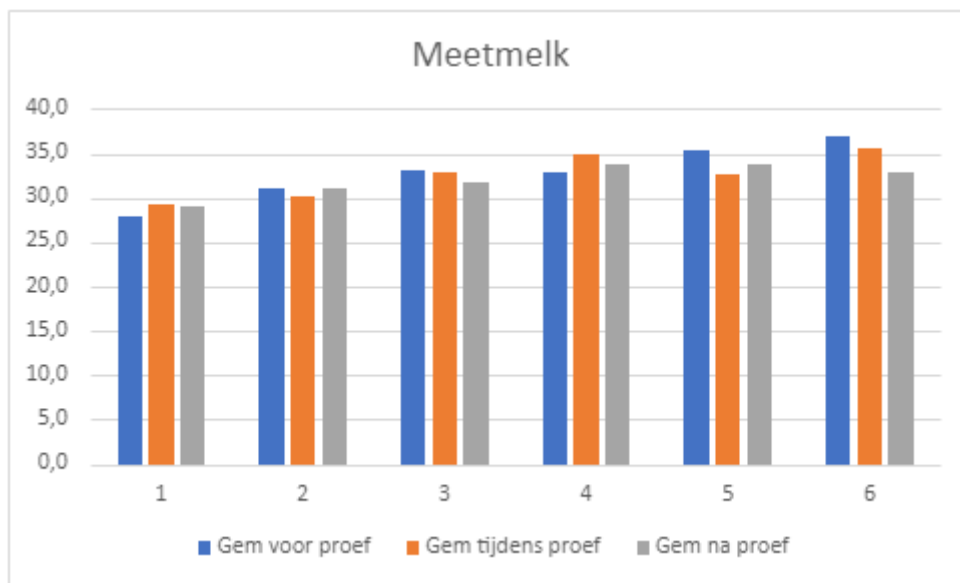
Bedrijf	# koeien	Gem. jaarproductie per koe	Vet %	Eiwit %	Robot/melkstal	Rantsoen
1	220	9312	4,67	3,58	Melkstal	Gras/mais/meel
2	104	9679	4,56	3,82	Robot	Gras/mais/weidegang
3	105	9094	4,40	3,49	Robot	Gras/mais/weidegang
4	63	10445	4,20	3,56	Robot	Gras/mais/weidegang
5	65	10877	4,30	3,50	Robot	Gras/mais/luzerne
6	65	10950	4,21	3,53	Robot	Gras/mais/bierborstel/weidegang
7	199	9657	4,41	3,53	Melkstal	Gras/mais/weidegang

Zoals te zien is, heeft elk bedrijf een gemiddelde melkproductie per koe van meer dan 8500 kg per jaar. Daarnaast voldeden al deze bedrijven ook aan de voorwaarden van MPR deelname en melkleveranties inzichtelijk. Sommige van de bedrijven doen niet aan weidegang, de andere bedrijven zijn niet vroeg begonnen met weiden. De bedrijven voerden voor de proef allemaal een constant rantsoen, maar door wat onvoorziene omstandigheden zijn sommige bedrijven tijdens de proef wel veranderd van kuil. Ook had elk bedrijf melkmetingen of robotdata. Daarnaast werden op elk bedrijf Holstein koeien gemolken. Voor bedrijf 7 was echter geen koppeling beschikbaar tussen de melkmetingen en het managementprogramma, waardoor voor dat bedrijf de gegevens per koe per dag niet nagegaan kon worden. Daarnaast werden op elk bedrijf Holstein koeien gemolken.

3.1 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op de meetmelkproductie van het melkvee?

Voor het vergelijken van de meetmelkproductie is per bedrijf de gemiddelde meetmelkproductie per periode uitgerekend. Deze zijn vervolgens naast elkaar gezet in figuur 6. Zoals uit de figuur blijkt, is de meetmelkproductie op 2 bedrijven hoger tijdens de proefperiode ten opzichte van de voor- en naperiode. Op de 5 andere bedrijven is de gemiddelde meetmelkproductie lager ten opzichte van de voorperiode en bij 2 bedrijven ook ten opzichte van de naperiode. Er is dus geen eenduidige uitkomst van de proef wat betreft de invloed op de meetmelkproductie van het melkvee. Ook uit het statistisch model blijkt dat er over de bedrijven gemiddeld geen significant verband aangetoond kan worden ($p=0,089$) tussen de inzet van het product en de meetmelkproductie van het melkvee. Per individueel bedrijf gekeken, is er alleen voor bedrijf 4 een significant verband aan te tonen tussen de inzet van het product en een verhoging in de meetmelkproductie ten opzichte van de voorperiode, $p=0,002$. Hierbij is gecorrigeerd voor bedrijfsinvloeden en invloeden van de veehouder.

Figuur 6 Vergelijking van de gemiddelde meetmelkproductie per bedrijf verdeeld over de voor- proef en naperiode.

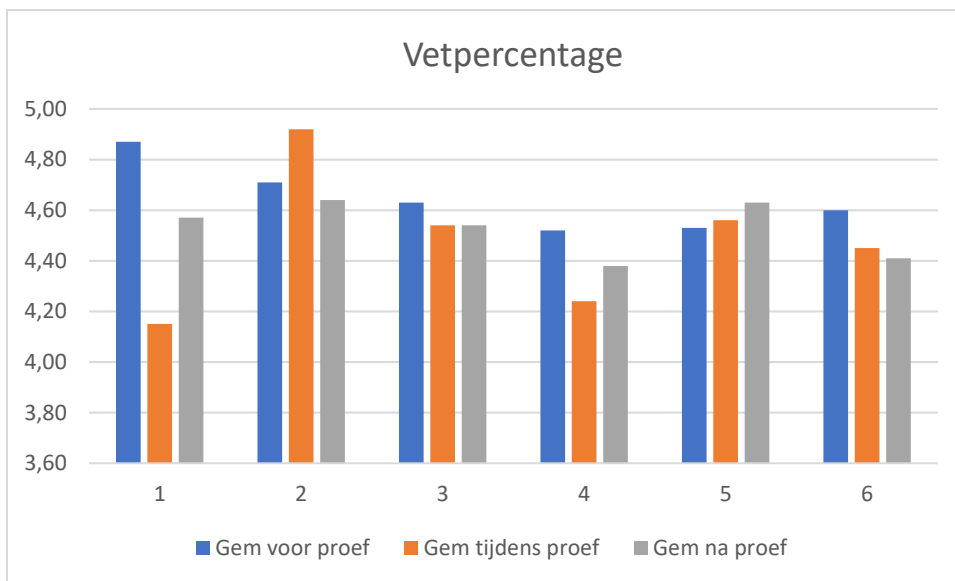


3.2 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het vet- en eiwitgehalte in de melk?

3.2.1 Vet

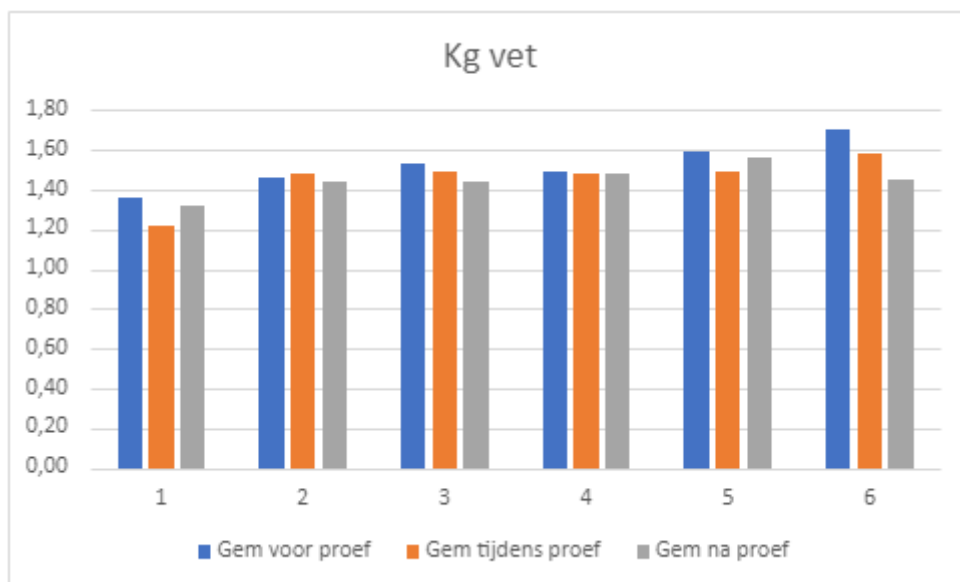
Over de verschillende bedrijven gemiddeld, was geen significant verband aan te tonen tussen een verhoging of een verlaging van het vetpercentage en de inzet van het product. Op 4 van de 7 bedrijven die deelnamen aan de proef, was het vetpercentage tijdens de proefperiode gemiddeld lager dan tijdens de voorperiode zoals te zien is in figuur 7. Op de meeste bedrijven zakte het vetpercentage in de melk na de proefperiode nog verder. Dit heeft echter ook te maken met seizoensinvloeden, waarvoor in het statistisch model is gecorrigeerd aan de hand van gegevens over de afgelopen 4 jaren, zoals beschreven staat in de materiaal en methode (MCC Vlaanderen, z.d.). Uit het statistisch model blijkt dat op 3 bedrijven, ondanks het corrigeren voor seizoensinvloeden, het vetpercentage tijdens de proef lager is ten opzichte van voor de proef ($p < 0.001$). Op 2 bedrijven is het vetpercentage tijdens de proef hoger ten opzichte van de voorperiode ($P < 0,001$ en $P = 0,033$). Op de meeste bedrijven is er na de proef geen significant verschil te zien ten opzichte van de proefperiode. Op bedrijf 1 en 4 zakt het vetpercentage na de proef nog significant verder ($p < 0.001$) en op bedrijf 5 stijgt het vetpercentage na de proef nog verder ($p < 0.001$).

Figuur 7 Gemiddeld gecorrigeerd vetpercentage van de tankmelk per bedrijf verdeeld over de 3 periodes.



Bij een stijging van liters melk wordt echter vaak een daling in gehalten per liter gezien. Kilogrammen vet productie per dag zegt daarom meer over de absolute productie van de dieren. Ook op kilogrammen vet is echter geen eenduidig beeld te zien. De kilogrammen vet productie is op bedrijf 1, 3, 5 en 6 lager tijdens de proefperiode dan tijdens de voorperiode. Na de proefperiode is ook hier het effect wisselend. Alleen op bedrijf 2 is een lichte stijging te zien in kilogrammen vet per koe per dag, maar dit verschil is ook niet significant ($p=0.826$).

Figuur 8 Kilogrammen vet productie per koe per dag verdeeld over de 3 periodes.

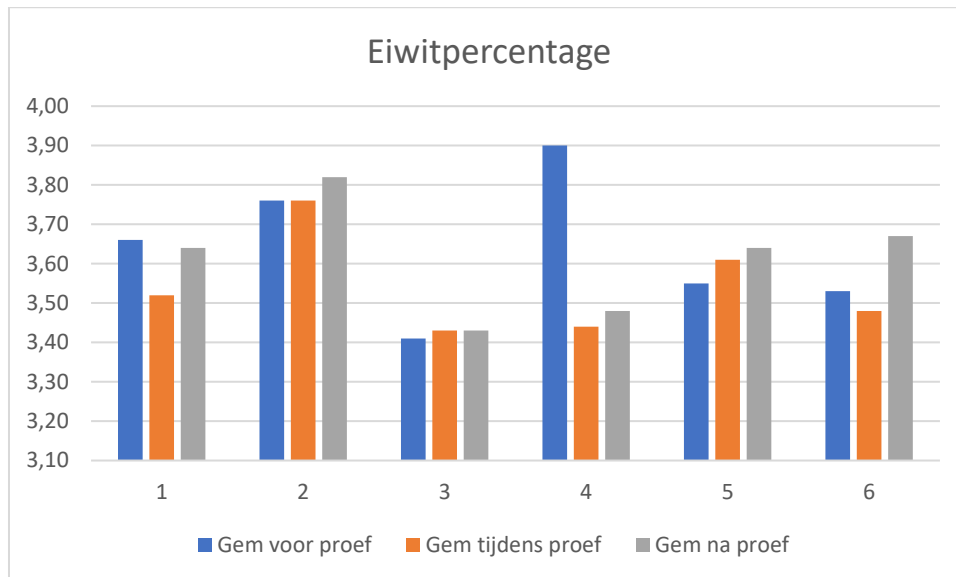


3.2.2 Eiwit

Over de bedrijven die deelnamen aan de proef gemiddeld, was er geen significant verband aan te tonen tussen de inzet van het product en een verhoging of een verlaging van het eiwitgehalte. Op 3 van de 7 bedrijven die deelnamen aan de proef, was het gecorrigeerde eiwitpercentage tijdens de proefperiode gemiddeld lager dan tijdens de voorperiode zoals te zien is in figuur 9. Echter op geen

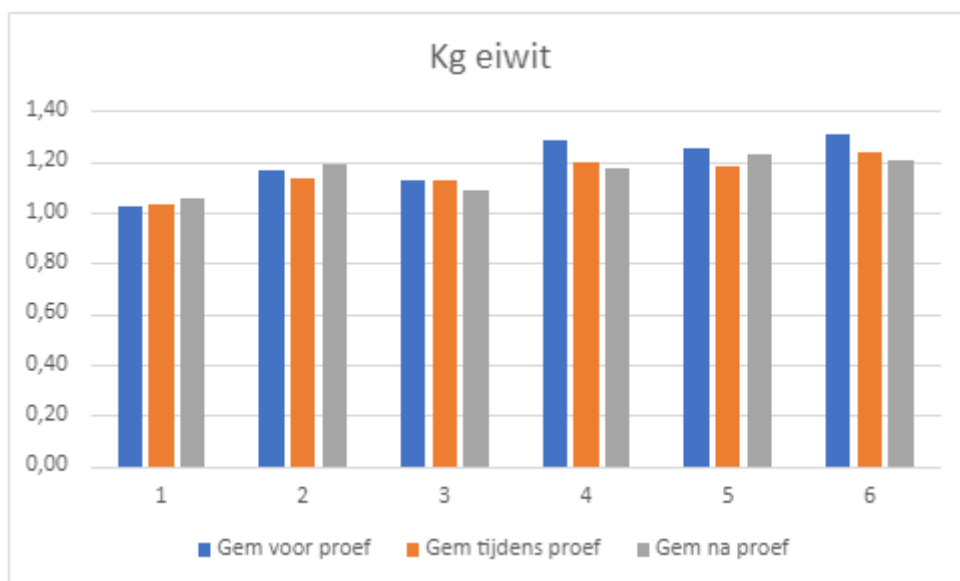
van de bedrijven zakte het eiwitpercentage nog verder na de proefperiode. De correctie op eiwitpercentage is gebaseerd op gegevens van de afgelopen 4 jaren en berekend zoals beschreven staat in de materiaal en methode (MCC Vlaanderen, z.d.). Ook uit het statistisch model blijkt dat op 3 bedrijven, ondanks het corrigeren voor seizoensinvloeden, het eiwitpercentage tijdens de proef lager is ten opzichte van voor de proef ($p=0.001$ en $p<0,001$). Op 2 bedrijven is het eiwitpercentage tijdens de proef hoger ten opzichte van de voorperiode ($P<0,001$ en $P=0,033$). Ook het effect na de proefperiode is heel wisselend. Zo stijgt op 4 bedrijven het eiwitpercentage in de naperiode significant ($p=0.038$ en $p<0,001$).

Figuur 9 Gemiddeld gecorrigeerd eiwitpercentage van de tankmelk per bedrijf verdeeld over de 3 periodes.



Als de liters melk stijgen, wordt echter vaak een daling in gehalten per liter gezien. Kilogrammen eiwit productie per dag zegt daarom meer over de absolute productie van de dieren. Ook op kilogrammen eiwit is echter geen eenduidig beeld te zien, zoals blijkt uit figuur 10. De kilogrammen eiwit productie is op bedrijf 2, 4, 5 en 6 lager tijdens de proefperiode dan tijdens de voorperiode. Na de proefperiode is ook hier het effect wisselend. Op de bedrijven 1, 2 en 5 is een lichte stijging te zien in kilogrammen eiwit per koe per dag, maar dit verschil is alleen voor bedrijf 5 significant ($p<0,001$).

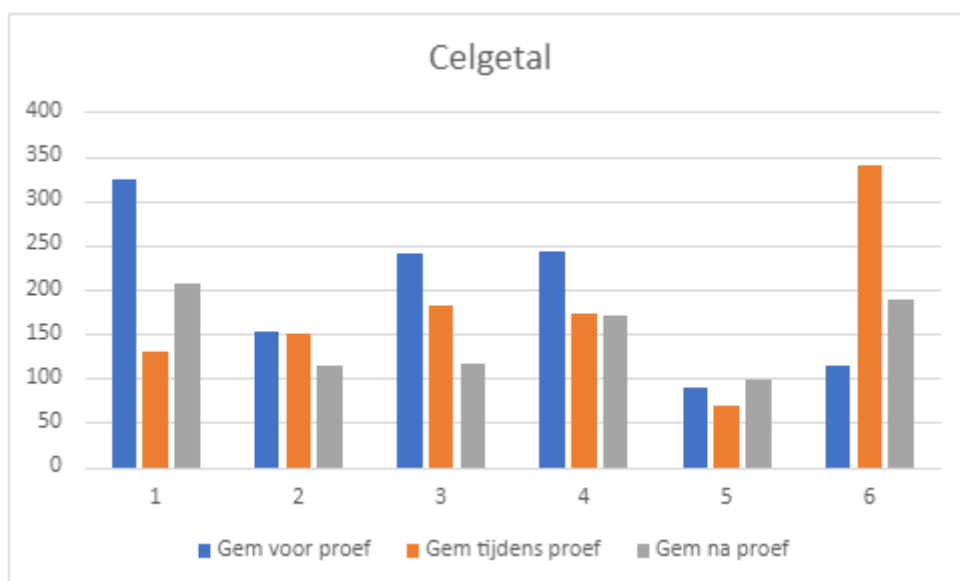
Figuur 10 Kilogrammen eiwit productie per koe per dag verdeeld over de 3 periodes.



3.3 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het celgetal in de melk?

Voor deze deelvraag is het gemiddelde celgetal van de proefperiode vergeleken met de voor- en naperiode. Zoals te zien is in figuur 11 is het resultaat sterk wisselend. Op bedrijf 6 is het celgetal in de proefperiode hoger ten opzichte van de voor en na periode ($p < 0,001$). Op bedrijf 1 en 5 is het celgetal lager ten opzichte van de voor- en naperiode ($p < 0,001$ en $p = 0,018$). Op bedrijf 3 is het celgetal in de proefperiode lager ten opzichte van de voorperiode, maar hoger ten opzichte van de naperiode ($p < 0,001$). Op bedrijf 4 is het celgetal tijdens de proefperiode lager dan tijdens de voorperiode en praktisch gelijk aan het celgetal tijdens de naperiode ($p < 0,001$ en $p = 0,933$). Op bedrijf 2 is geen significant verschil aan te tonen. Over al de 6 bedrijven gemiddeld is er statistisch geen verband aan te tonen tussen de inzet van het product en een daling in het gemiddeld celgetal.

Figuur 11 Gemiddeld celgetal per bedrijf verdeeld over de 3 periodes.



4 Discussie

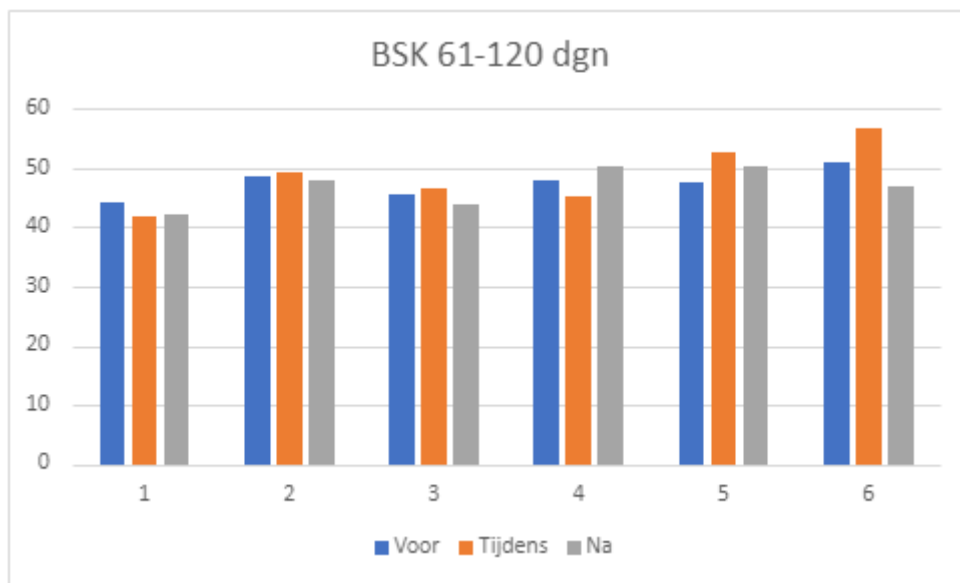
Zoals in de resultaten al kort benoemd, was er tijdens de proef voor één bedrijf geen koppeling beschikbaar tussen de melkmetingen van de melkstal en het managementprogramma. Bovendien was het aantal lactatiedagen niet up to date uit het programma te halen. Hierdoor is dit bedrijf uit de data gelaten, aangezien hier geen betrouwbaar beeld van gevormd kon worden. Wel zijn in de onderstaande discussie bepaalde effecten meegenomen die visueel waargenomen zijn op het bedrijf. Hiernaast was het op bedrijf 5 niet mogelijk om het gemiddeld aantal lactatiedagen per dag te verkrijgen. Hierdoor is bedrijf 5 wel meegenomen in de resultaten, maar kon er in het statistisch model niet worden gecorrigeerd voor invloed van lactatiedagen.

4.1 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op de meetmelkproductie van het melkvee?

Een effect op de meetmelkproductie van melkvee is lastig te zien. Meetmelkproductie is, zoals in de inleiding ook benoemd, onderhevig aan veel invloeden van buitenaf. Zo spelen seizoensinvloeden een rol, evenals stress momenten en het aantal lactatiedagen. Hiernaast is ook voeding van grote invloed. Door te corrigeren voor bedrijfsinvloeden en invloeden van de veehouder, worden 2 van de grootste externe invloeden uitgesloten. Echter zijn er tijdens de proef ook een aantal veehouders gewisseld van kuil of de koeien gaan weiden. Om in een eventuele toekomstige proef een betrouwbaarder beeld te krijgen is het van belang om alle externe factoren die van invloed zijn op melkproductie en gezondheid zo constant mogelijk te houden tijdens de gehele voor- proef- en naperiode. Een constant rantsoen is in de eerste plaats van groot belang. Door de proef in het winterseizoen te doen, kan al worden voorkomen dat er tijdens de proef gestart wordt met weidegang. Dit heeft ook effect op de gehalten in de melk, aangezien deze in het winterseizoen stabiel zijn dan in het voorjaar en de zomer. Niet alle veranderingen kunnen echter uitgesloten worden op een melkveebedrijf, waardoor er altijd wat variatie zal zijn.

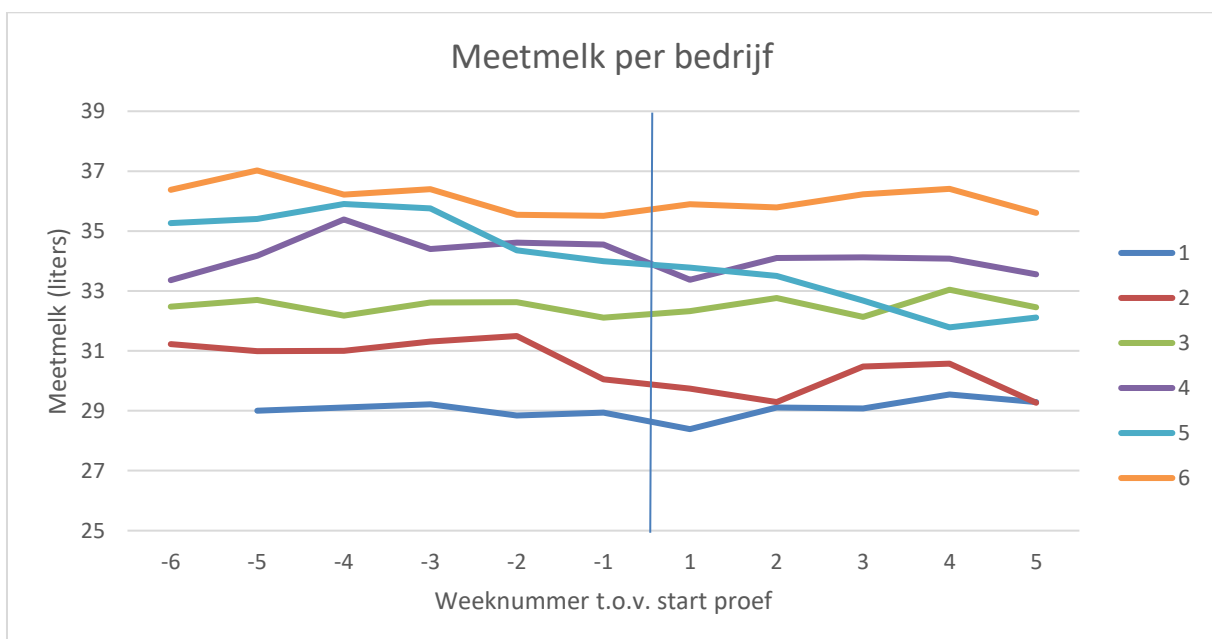
Bij de verwerking van de proefresultaten is het BSK van de melkproductieregistraties(MPR) van de deelnemende bedrijven ook meegenomen. Het BSK is bovendien opgedeeld in groepen per lactatiestadium. Aangezien het product naar verwachting het meeste effect heeft bij verse koeien, geeft dit nog meer informatie dan de totale meetmelkproductie. Zoals in figuur 12 te zien is, stijgt het BSK in de groep 61-120 dagen lactatie op 5 van de 7 proefbedrijven. Dit laat wel een duidelijke trend zien dat de koeien die opgestart zijn met calciumgluconaat, of in het begin van de lactatie gestart zijn met calciumgluconaat, het beter doen ten opzichte van de periode voor de proef. Het effect na de proef is wat wisselend, echter is het waarschijnlijk dat dit wordt veroorzaakt door het moment van MPR ten opzichte van het eind van de proefperiode. Dit aangezien het product nog een nawerkingstijd heeft. Als de eerste MPR na stop van proefperiode dan in deze nawerkingstijd zit, zou het zo kunnen zijn dat het BSK nog verder is gestegen, terwijl al gestopt is met het voeren van het product. Op de MPR uitslag wordt per koe ook de jaarproductie voorspeld. Na analyse van de resultaten blijkt dat de werkelijke productie van de dieren die aan het einde van de proefperiode niet meer dan 120 dagen in lactatie waren, ongeveer 250 kilogram per jaar hoger is dan de voorspelde productie. Dit laat wel een duidelijke trend zien dat het product bij de verse koeien wel een effect heeft. Door middel van een langere proefperiode zou het effect verderop in de lactatie geanalyseerd kunnen worden van de dieren die opgestart zijn met calciumgluconaat.

Figuur 12 BSK van de koeien 61 tot 120 dagen in lactatie in de voor- proef en naperiode.



Ook is het van belang om te kijken naar wat er op het bedrijf gebeurt in aanloop naar de start van de proef. In figuur 13 is het verloop in meetmelk per koe, per bedrijf weergegeven. Hierin is 0 op de x-as, bij de blauwe verticale lijn, het startmoment van de proef. Uit de figuur blijkt dat er een wisselend beeld is in aanloop naar de proef. Echter is op vrijwel alle 6 bedrijven een dalende trend in meetmelk te zien in aanloop naar de proef. Dit heeft wel invloed op de resultaten. Het zou ook zo kunnen zijn dat er geen significante verhoging in melkproductie gevonden wordt, maar dat door het voeren van calciumgluconaat wel de daling in melkproductie afgeremd wordt. Dit is echter moeilijk meetbaar en aantoonbaar.

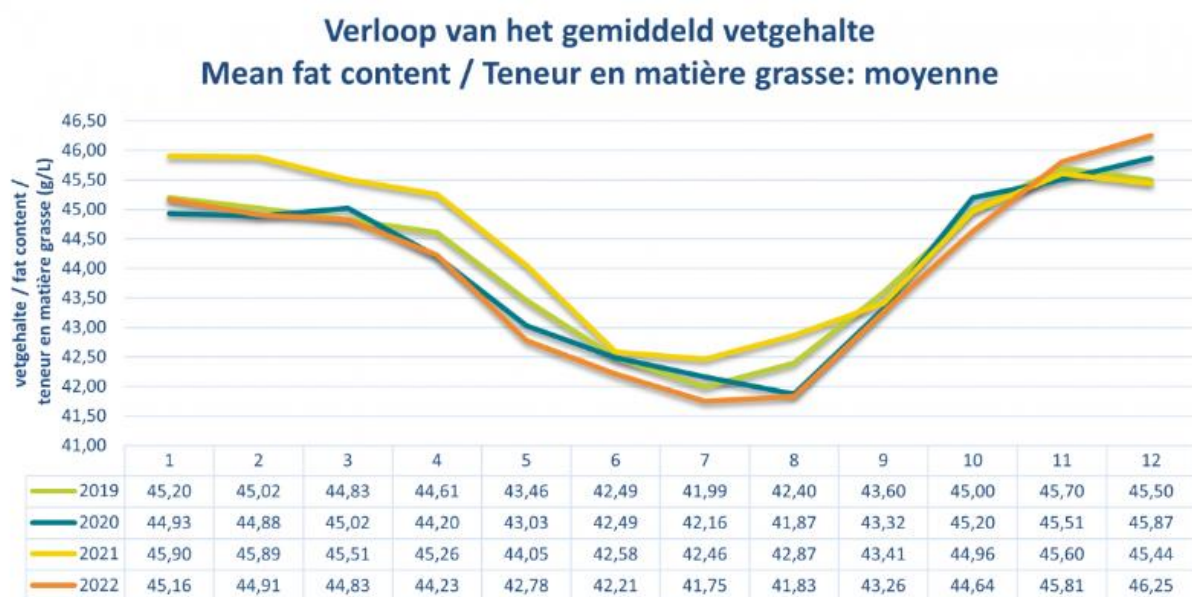
Figuur 13 Verloop van meetmelk per bedrijf ten opzichte van start proefperiode.



4.2 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het vet- en eiwitgehalte in de melk?

Net als meetmelk zijn de gehalten vet en eiwit in de melk van veel dingen afhankelijk. Verse koeien die in de piek van de lactatie komen, geven veel liters met wat lagere gehalten bijvoorbeeld. Naarmate de koeien verder in lactatie komen, daalt normaal gesproken de melkgift en stijgen de gehalten in de melk weer. Hoe hoog de gehalten zijn is ook afhankelijk van het welzijn en de gezondheid van een koe. Een dier met ketose heeft een andere verhouding tussen de gehalten vet en eiwit ten opzichte van een gezond dier. Ook de voeding speelt een grote rol in de bepaling van het vet- en eiwitgehalten. Echter speelt bij vet en eiwit gehalten in de melk ook seizoen een grote rol. Zo is er in gehalten een duidelijke trend te zien over het jaar (zie figuur 14). In dit onderzoek is data gebruikt uit Vlaanderen. Omdat deze data voor Nederland niet zo concreet beschikbaar was, is er voor gekozen om de data van de afgelopen 4 jaren uit Vlaanderen te gebruiken. Dit is dichtbij Nederland en de data zal in Nederland naar verwachting niet veel anders zijn. Voor een nauwkeuriger bepaling zou er data uit Nederland gebruikt kunnen worden. In onderstaande figuur is het verloop van het vetgehalte over de afgelopen 4 jaren weergegeven van de melk die bij melkfabriek MCC-Vlaanderen (z.d.) is binnen gekomen.

Figuur 14 Verloop van het vetgehalte in de melk bij MCC-Vlaanderen over 2019 tot en met 2022.



Zoals te zien is in figuur 14 is de data gemiddeld per maand beschikbaar. Dit is in de data set echter vloeiend gemaakt. Dat wil zeggen dat de gemiddeldes van de maand halverwege de maand zijn ingevuld en dat de dagen er tussen berekend zijn zodat er een vloeiende lijn ontstaat.

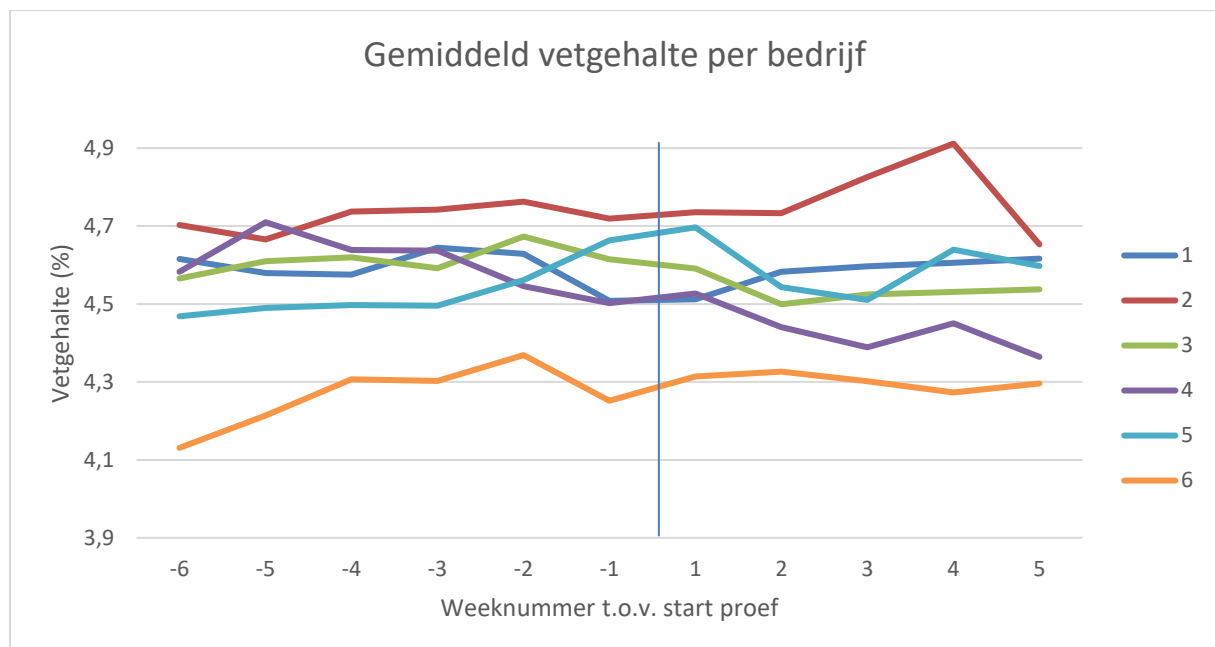
Er is in dit onderzoek gekozen om gebruik te maken van de gehalten die bepaald zijn in de tankmelk bij levering. Dit is normaal gesproken maar eens per 3 dagen. Er zou ook voor gekozen kunnen worden om op bedrijven met Lely robots de gehaltenmeting van Lely te gebruiken. Bij het data verzamelen zijn de cijfers van Lely naast de cijfers van de tankmelk gelegd en hieruit bleek dat de gehaltenbepaling van Lely wel wat afweek van de werkelijke gehalten. Hierom is ervoor gekozen om toch de tankmelkgehalten te gebruiken, ondanks een lager aantal meetpunten. De tankmelk is

hiernaast het gemiddelde van de 3 voorgaande dagen waardoor er voor die 3 dagen, in de dataset, dezelfde gehalten in zijn gevuld.

Het aantal lactatiedagen speelt ook een rol in de productie van vet en eiwit. Het is dus van belang om hiervoor te corrigeren. Op bedrijf 5 was dit niet mogelijk, zoals eerder beschreven. Dit zou ervoor kunnen zorgen dat het geschetste beeld op bedrijf 5 iets afwijkt van de werkelijkheid.

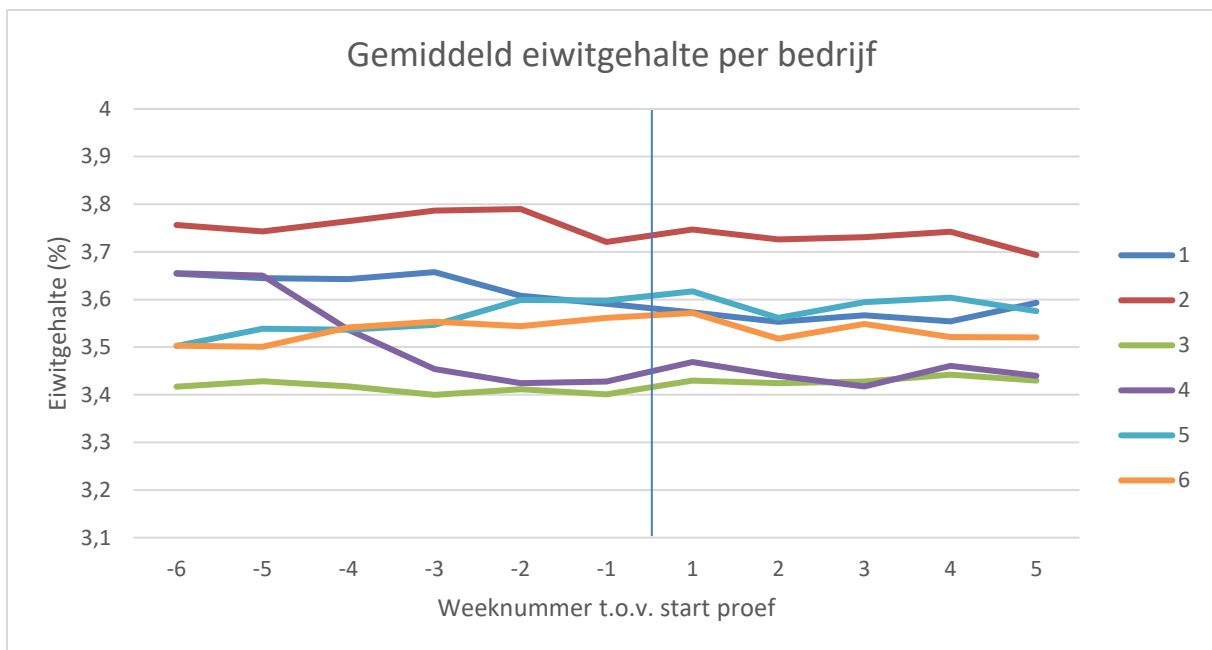
In figuur 15 is aangegeven wat er in aanloop naar de proef op bedrijfsniveau gebeurde met het vetgehalte. Het weergegeven vetgehalte is volgens eerder beschreven methode gecorrigeerd voor seizoensinvloeden. Uit de figuur blijkt dat er een heel wisselend beeld is per bedrijf. Zo is op een aantal bedrijven het vetgehalte stijgend op het moment van starten met de proef terwijl het vetgehalte op andere bedrijven juist zakkende is. Toch blijkt ook dat er in aanloop naar de proef geen enorme veranderingen hebben plaats gevonden in het vetgehalte.

Figuur 15 Verloop van gemiddeld vetgehalte per bedrijf rondom start van de proef.



In figuur 16 staat het verloop weergegeven van het eiwitgehalte in de melk per bedrijf rondom de start van de proef. Net als bij het melkvet zijn deze gehalten gecorrigeerd voor seizoensinvloeden volgens de eerder beschreven methode. Ook uit deze grafiek blijkt dat op de meeste bedrijven niet veel veranderd. Echter is te zien dat op bedrijf 4 het eiwitgehalte in de melk erg hard zakt in aanloop naar de proef. Dit kan een vertekend beeld geven. Het percentage eiwit kan namelijk wel hard zakken, maar daardoor nog wel een hoger gemiddelde geven voor de voorperiode dan dat het eiwitpercentage werkelijk was op het moment van starten met de proef. Na de start van de proef is het eiwitgehalte wel wat gestegen in plaats van gedaald. Het gegeven dat uit de statistische toets blijkt dat het bedrijf een significant lager eiwitpercentage heeft tijdens de proef, lijkt het een andere oorzaak te hebben dan het voeren van calciumgluconaat.

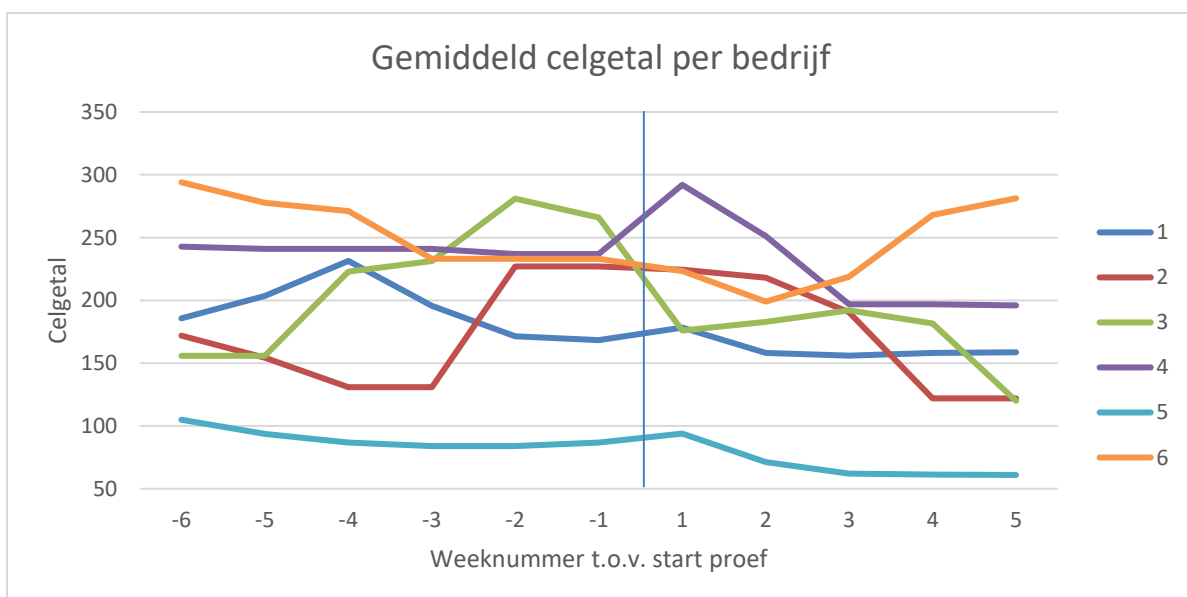
Figuur 16 Verloop van gemiddeld eiwitgehalte per bedrijf rondom start van de proef.



4.3 Wat is het effect van pens bestendig calciumgluconaat op het celgetal in de melk?

Om het effect van het product op het celgetal in de melk te kunnen zien wordt gebruik gemaakt van de monsterring van de tankmelk. Echter wordt niet van elke levering het celgetal bepaald. Dit zorgt ervoor dat er relatief weinig meetpunten van het celgetal beschikbaar zijn. Dit geldt zowel de voorperiode, als de proef- en na periode. Om de bepaling nauwkeuriger te maken zou vaker het celgetal in de tankmelk bepaald moeten worden. In figuur 17 is te zien dat er grote verschillen zitten tussen de bedrijven wat hoogte van het celgetal betreft en het verloop ervan. Op het moment van de start van de proef is het celgetal op vrijwel elk bedrijf redelijk stabiel. Op 5 van de 6 bedrijven is een dalende trend zichtbaar gedurende de proefperiode.

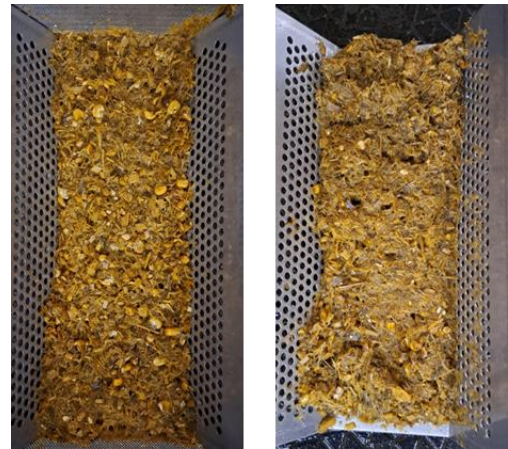
Figuur 17 Verloop van het gemiddeld celgetal per bedrijf rondom de start van de proef.



4.4 Praktische toepassing

Naast celgetal als gezondheidsindicator is ook de vertering van de mest een gezondheidsindicator. Bovendien geeft het informatie over de benutting van het voer. Op het bedrijf wat verder in de data niet meegenomen is door de ontbrekende koppeling, is wel een duidelijke verandering in mest waargenomen. Hiervoor werd 4 keer een mengmonster van de mest gezeefd. In figuur 18 en 20 is het resultaat ervan weergegeven. Hieruit blijkt dat er voor de proef veel onverteerde maiskorrels in de mest zaten. Tijdens de proef was dit duidelijk minder dan voor en na de proef. Dit zou erop kunnen wijzen dat calciumgluconaat een positieve invloed kan hebben op de benutting van het gevoerde zetmeel. Bovendien verandert de verhouding tussen de hoeveelheden die op de verschillende zeven blijft liggen. De manier waarop het op dit bedrijf veranderd is, neigt naar een verbetering in de vertering en benutting van het voer. Er zitten tijdens de proef namelijk minder grove delen op de bovenste zeef. Ook wordt de verhouding tussen de hoeveelheid op de verschillende zeven anders. De grofste zeef wordt minder en de fijnste zeef meer. Dit zou erop kunnen wijzen dat de vertering en benutting beter worden, waardoor het voer in kleinere delen terug komt in de mest.

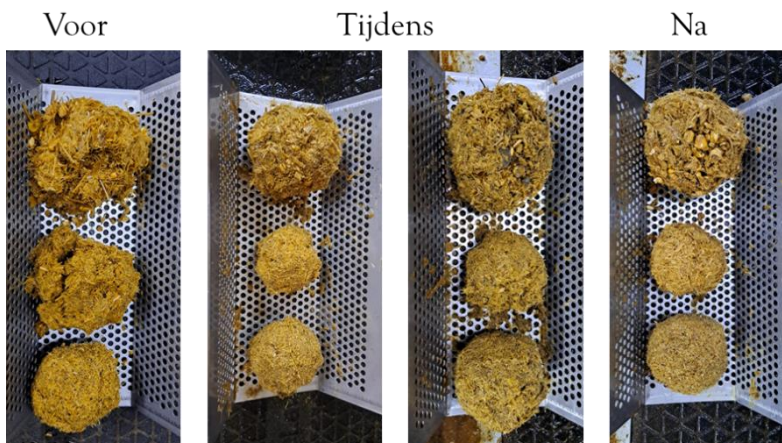
Figuur 18 Resultaat van het mestzeven op de bovenste zeef op hetzelfde bedrijf, voor en tijdens de proef.



Zoals in de inleiding staat beschreven, leidt darmverzuring tot een beschadiging van het darmslijmvlies. Dit kan zich uiten in stukjes darmmucus in de mest. Bij het mestzeven is op verschillende bedrijven darmmucus gevonden. Op 1 bedrijf werd het voor de proef gevonden en tijdens de proef niet meer. Op een ander bedrijf is het na afloop van de proef gevonden. Op dat bedrijf was gestopt met het voeren van het product en kort daarna hadden de koeien een paar dagen stress gehad door wat aanpassingen in de stal. Bij het mestzeven kwam toen heel duidelijk het darmmucus naar voren, zoals ook te zien is in figuur 19. Dit zou erop kunnen wijzen dat calciumgluconaat een positief effect heeft op de gezondheid van de darmen en het darmepitheel.

Figuur 19 Resultaat van 4 keer mestzeven op 1 bedrijf. Voor, tijdens en na staan voor de voorperiode, proefperiode en naperiode.

Figuur 20 Darmmucus, gevonden in de mest.



4.5 Aanbevelingen voor vervolgonderzoek

Voor eventueel vervolgonderzoek of een herhaling van de proef is het aan te bevelen om de proef in het winterseizoen uit te voeren. Dit omdat er dan geen weidegang wordt toegepast, waardoor er een variabele die de uitkomst zou kunnen beïnvloeden wordt uitgeschakeld. Daarnaast zou ervoor gekozen kunnen worden om vaker MPR te doen. Hierdoor is er vaker een BSK beschikbaar van zowel de hele koppel, als van subgroepen op een bedrijf. Het BSK is, zoals eerder beschreven, een goed te vergelijken getal. Bovendien zegt dit vaak meer dan de absolute productie per dier in liters. Wel moet dan de MPR zo vaak gedaan worden dat er voor de statistische analyse voldoende meetpunten zijn. Ook zou de proefopzet iets anders kunnen gekozen worden. Dit zou kunnen door op 1 bedrijf meerdere diergroepen te maken die aan elkaar gelijk zijn en vervolgens de ene groep wel het product te geven en de andere groep niet. Op deze manier worden ook veel externe invloeden uitgeschakeld en kan het effect van het product eenvoudiger gezien worden. Als laatste aanbeveling zou er nog overwogen kunnen worden om de proefperiode langer te maken. Dit zou ervoor kunnen zorgen dat de koeien die tijdens de proef afkalven en opstarten, verder in lactatie gevolgd kunnen worden.

Voor de praktische toepasbaarheid bij P. Bos veevoerders is gebleken dat het product een positief effect lijkt te hebben op vertering en productie. Dit zou een reden kunnen zijn om het product breder in te gaan zetten in bijvoorbeeld een opstartbrok.

5 Conclusie en aanbevelingen

Uit de proef blijkt als eerste dat er over al de deelnemende bedrijven gemiddeld geen verhoging van de meetmelkproductie waargenomen kon worden. De resultaten op individueel bedrijfsniveau waren ook heel wisselend. Het voeren van pens bestendig calciumgluconaat zorgt dus niet voor een significant verhoogde meetmelkproductie van het melkvee. Dit is echter wel over de hele veestapel gemiddeld. Het lijkt erop dat het voeren van calciumgluconaat aan verse koeien wel een positief effect heeft. Tijdens de proef ontstond namelijk een positieve trend voor wat betreft de melkproductie en de BSK van de verse koeien.

Ten tweede blijkt dat er ook voor de gehalten vet en eiwit in de melk geen eenduidige uitkomst is. Het is sterk wisselend per bedrijf wat er gebeurt met de gehalten. Op sommige bedrijven stijgt het vetpercentage, terwijl het op andere bedrijven juist daalt tijdens de proef. Ook de grammen vetproductie per dag is sterk wisselend en ook hier kan geen eenduidige lijn uit getrokken worden. Dit geldt eigenlijk ook voor eiwit in de melk. De gehalten zijn op het ene bedrijf hoger tijdens de proef ten opzichte van ervoor, terwijl het op andere bedrijven juist andersom is. Dit werkt door in de grammen eiwitproductie, waardoor ook voor eiwit geen eenduidig beeld aangetoond kon worden.

Voor het celgetal lijkt er een iets duidelijkere lijn te zijn. Op 4 van de 6 bedrijven lijkt het celgetal tijdens de proef lager dan voor de proef. Toch is ook hier het beeld niet heel eenduidig. Wat wel duidelijk is, is dat het product op verse koeien een positief effect heeft. Dit blijkt uit een verhoogd BSK, zoals eerder ook genoemd. Daarnaast lijkt het zo te zijn dat het product een positieve invloed heeft op de vertering en benutting van het voer, wat zich uit in minder onverteerde korrels en delen in de mest. Ook leek de mest van de verse koeien tijdens de proefperiode minder vaak te dun.

Een aanbevelingen voor vervolgonderzoek is om een proef te doen in de winter om zo minder last te hebben van het seizoenseffect en rantsoenwisselingen. Daarnaast is het aan te bevelen om op 1 bedrijf met meerdere gelijke diergroepen te werken. Dit zorgt ervoor dat de effecten binnen individuele bedrijven beter zichtbaar worden. Ook is het aan te bevelen om de proefperiode langer te maken, om zo ook te kunnen zien wat de productie en gezondheid van de koeien gaat doen die met calciumgluconaat in het rantsoen zijn opgestart.

Literatuurlijst

- Abuajamieh, M., Kvidera, S. K., Fernandez, M. L., Nayeri, A., Upah, N. C., Nolan, E. A., Lei, S. M., DeFrain, J. M., Green, H. B., Schoenberg, K. M., Trout, W. E., & Baumgard, L. H. (2016). Inflammatory biomarkers are associated with ketosis in periparturient Holstein cows. *Research in Veterinary Science*, 109, 81–85. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.09.015>
- Archer, S. Y., Meng, S., Wu, J. T., Johnson, J. A., Tang, R. S., & Hodin, R. A. (1998). Butyrate inhibits colon carcinoma cell growth through two distinct pathways. *Surgery*, 124(2), 248–253. [https://doi.org/10.1016/s0039-6060\(98\)70127-8](https://doi.org/10.1016/s0039-6060(98)70127-8)
- Bannink, A., Dijkstra, J., & Koopmans, S. (2018). Relaties tussen acidose in de pens, in de darm en in het metabolisme van melkvee tijdens de vroege lactatie : deskstudie. <https://doi.org/10.18174/465646>
- Beekman, J., (2019, December) Verlengen levensduur koe levert € 56.000 op. *Melkvee100plus.nl* Geraadpleegd op 5 Juni 2023, van <https://melkvee100plus.nl/management/verlengen-levensduur-koe-levert-e-56-000-op/>
- Biggs, P., & Parsons, C. M. (2007). The Effects of Several Organic Acids on Growth Performance, Nutrient Digestibilities, and Cecal Microbial Populations in Young Chicks. *Poultry Science*, 87(12), 2581–2589. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00080>
- Coöperatie CRV. *Bedrijven en koeien in cijfers - Nederland*. (z.d.). <https://www.cooperatie-crv.nl/downloads/stamboek/bedrijven-en-koeien-in-cijfers/>
- CRV (11 Augustus 2020) CRV actualiseert berekening kerngetallen NO, ISK, LM en BSK. Geraadpleegd op 4 Augustus 2023, van <https://crv4all.nl/nl/news/crv-actualiseert-berekening-kerngetallen>
- Dallago, G. M., Wade, K., Cue, R. I., McClure, J., Lacroix, R., Pellerin, D., & Vasseur, E. (2020). Keeping Dairy Cows for Longer: A Critical Literature Review on Dairy Cow Longevity in High Milk-Producing Countries. *Animals*, 11(3), 808. <https://doi.org/10.3390/ani11030808>
- Han, H., Li, Y., Fang, J., Liu, G., Yin, J., Li, T., & Yin, Y. (2018). Gut Microbiota and Type 1 Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 995. <https://doi.org/10.3390/ijms19040995>
- Inan, M., Rasoulpour, R. J., Yin, L., Hubbard, A. K., Rosenberg, D. W., & Giardina, C. (2000). The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF- κ B activity in a human colonic epithelial cell line. *Gastroenterology*, 118(4), 724–734. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(00\)70142-9](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(00)70142-9)
- Kronfeld, D. S. (1982). Major Metabolic Determinants of Milk Volume, Mammary Efficiency, and Spontaneous Ketosis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 65(11), 2204–2212. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(82\)82483-1](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(82)82483-1)
- Kvidera, S. K., Horst, E. A., Abuajamieh, M., Mayorga, E. J., Fernandez, M., & Baumgard, L. H. (2017). Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 2360–2374. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12001>

MCC Vlaanderen, (z.d.) Vetgehalte. Geraadpleegd op 1 Augustus 2023, van <https://www.mcc-vlaanderen.be/nl/content/vetgehalte>

MCC Vlaanderen, (z.d.) Eiwitgehalte. Geraadpleegd op 1 Augustus 2023, van <https://www.mcc-vlaanderen.be/nl/content/eiwitgehalte>

Mezzetti, M., Minuti, A., Piccioli-Cappelli, F., Amadori, M., Bionaz, M., & Trevisi, E. (2019). The role of altered immune function during the dry period in promoting the development of subclinical ketosis in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 102(10), 9241–9258. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16497>

Mulligan, F., & Doherty, M. (2008). Production diseases of the transition cow. *Veterinary Journal*, 176(1), 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.018>

Pacheco, J. A., De Bulnes, A. G., Astiz, S., Gomez, M. I., Martín, J. C., & Fernandez, M. J. (2018). Gestational toxemia in lactating sheep is associated with alterations in circulating inflammatory biomarkers. *World Buiatrics Congress*. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/31377/1/documento.pdf>

Plaizier, J. C., Mesgaran, M. D., Derakhshani, H., Golder, H., Khafipour, E., Kleen, J. L., Lean, I. J., Looor, J. J., Penner, G. B., & Zebeli, Q. (2018). Review: Enhancing gastrointestinal health in dairy cows. *Animal*, 12, s399–s418. <https://doi.org/10.1017/s1751731118001921>

Ramachandran, S., Fontanille, P., Pandey, A., & Larroche, C. (2006). Gluconic Acid: Properties, Applications and Microbial Production. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 185–195. <https://doaj.org/article/08add8a2c9df410e9055488160f6e345>

Rossi, F., Fiorentini, L., Masoero, F., & Piva, G. (1999). Effect of fat coating on rumen degradation and intestinal digestibility of soybean meal. *Animal Feed Science and Technology*, 81(3–4), 309–318. [https://doi.org/10.1016/s0377-8401\(99\)00074-7](https://doi.org/10.1016/s0377-8401(99)00074-7)

Sanz-Fernandez, M. V., Daniel, J., Seymour, D., Kvidera, S., Bester, Z., Doelman, J., & Martín-Tereso, J. (2020). Targeting the Hindgut to Improve Health and Performance in Cattle. *Animals*, 10(10), 1817. <https://doi.org/10.3390/ani10101817>

Schwab, M. H., Reynders, V., Shastri, Y., Loitsch, S., Stein, J., & Schröder, O. (2007). Role of nuclear hormone receptors in butyrate-mediated up-regulation of the antimicrobial peptide cathelicidin in epithelial colorectal cells. *Molecular Immunology*, 44(8), 2107–2114. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.09.016>

Seymour, D., Sanz-Fernandez, M. V., Daniel, J., Martín-Tereso, J., & Doelman, J. (2021). Effects of supplemental calcium gluconate embedded in a hydrogenated fat matrix on lactation, digestive, and metabolic variables in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 104(7), 7845–7855. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-20003>

Trouw nutrition (z.d.) Folder Selko Lactibute. Geraadpleegd Op 12 April 2023, van <https://www.trouwnutrition-scandinavia.com/contentassets/bfc7b4c412e645d5868d1d02c05e9004/58086-tn-selko-lactibute-folder-en.pdf?v=4992bd>

Trouw nutrition (z.d.) Een optimale levensdagproductie maakt verborgen rendement direct zichtbaar. Geraadpleegd op 10 April 2023, van <https://www.trouwnutrition-benelux.com/nl-nl/campagnes/healthylife/healthylife-melkvee/levensdagproductie/1a/>

Steele, M., Penner, G. B., Chaucheyras-Durand, F., & Guan, L. L. (2016). Development and physiology of the rumen and the lower gut: Targets for improving gut health. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4955–4966. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10351>

Stewart, A. S., Pratt-Phillips, S., & Gonzalez, L. M. (2017). Alterations in Intestinal Permeability: The Role of the “Leaky Gut” in Health and Disease. *Journal of Equine Veterinary Science*, 52, 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.02.009>

Tsukahara, T., Hashizume, K., Koyama, H., & Ushida, K. (2006). Stimulation of butyrate production through the metabolic interaction among lactic acid bacteria, *Lactobacillus acidophilus*, and lactic acid-utilizing bacteria, *Megasphaera elsdenii*, in porcine cecal digesta. *Animal Science Journal*, 77(4), 454–461. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2006.00372.x>

Xu, Q., Qiao, Q., Tian, J., Hou, J., Hu, M., Du, Y., Zhao, K., & Li, X. (2021). Gut Microbiota and Their Role in Health and Metabolic Disease of Dairy Cow. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.701511>

Xu, S., Han, R., Zhang, Y., He, C., & Liu, H. (2018). Differentiated stimulating effects of activated carbon on methanogenic degradation of acetate, propionate and butyrate. *Waste Management*, 76, 394–403. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.03.037>

Zhang, L., Liu, C., Jiang, Q., & Yin, Y. (2021). Butyrate in Energy Metabolism: There Is Still More to Learn. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 32(3), 159–169. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.12.003>

Bijlage: Statistische testen

Meetmelk

Tests of Model Effects

Source	Wald Chi-Square	Type III	
		df	Sig.
(Intercept)	874,549	1	<,001
Veehouder	81,122	4	<,001
voor/proef/na	4,848	2	,089
Lactatiedagen	52,959	1	<,001
Veehouder * voor/proef/na *	25,793	8	,001
Lactatiedagen			
Veehouder * voor/proef/na	26,746	8	<,001
Veehouder * Lactatiedagen	63,309	4	<,001
voor/proef/na * Lactatiedagen	5,207	2	,074

Dependent Variable: meetmelk

Model: (Intercept), Veehouder, voor/proef/na, Lactatiedagen, Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen, Veehouder * voor/proef/na, Veehouder * Lactatiedagen, voor/proef/na * Lactatiedagen

Estimates					
Veehouder	voor/proef/na			95% Wald Confidence Interval	
		Mean	Std. Error	Lower	Upper
1	na	30,515656634 990540	,4321953361 41487	29,66856934 1867040	31,362743928 114035
	proef	28,971212469 305513	,3243964992 12566	28,33540701 4138010	29,607017924 473016
	voor	29,497678972 819870	,3741890924 82063	28,76428182 8147300	30,231076117 492440
2	na	30,556308406 196884	1,081119230 413169	28,43735365 1593412	32,675263160 800355
	proef	30,530671382 546100	,4487777303 01944	29,65108319 4090660	31,410259571 001540
	voor	31,250959494 604200	,1174612230 58654	31,02073972 7829213	31,481179261 379186
3	na	31,162955102 323500	,1199000745 67070	30,92795527 4428378	31,397954930 218624
	proef	32,424978472 150230	,1522879028 68669	32,12649966 7246506	32,723457277 053950
	voor	32,299756348 177850	,1190066478 05777	32,06650760 4557685	32,533005091 798020
4	na	33,622738366 346440	,1128174961 96219	33,40162013 6975865	33,843856595 717014
	proef	34,833168548 702865	1,124792746 401305	32,62861527 5684410	37,037721821 721320
	voor	30,722197657 920184	,6506426999 88953	29,44696139 9137937	31,997433916 702430
6	na	34,333426109 890596	,2872809754 25654	33,77036574 4612775	34,896486475 168416
	proef	33,853234204 454970	,2381696072 00362	33,38643035 2130210	34,320038056 779730
	voor	33,139079251 401455	,8406531810 77215	31,49142929 3001087	34,786729209 801830

Covariates appearing in the model are fixed at the following values:

Lactatiedagen=198,13

5	na	33,632404380	,10800226853	33,420723824	33,844084937
	proef	32,756707704	,12915418103	32,503570161	33,009845247
	voor	35,113953508	,16357693184	34,793348612	35,434558403

P-waardes

Bedrijf	Voor tov proef	Proef tov na
1	0.288	0.004
2	0.120	0.983
3	0.517	<0.001
4	0.002	0.284
5	<0.001	<0.001
6	0.414	0.198

Tests of Model Effects

Source	Wald Chi-Square	Type III	Sig.
		df	
(Intercept)	,717	1	,397
Veehouder	51,922	4	<,001
voor/proef/na	4,425	2	,109
Lactatiedagen	1,304	1	,253
Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen	180,426	8	<,001
Veehouder * voor/proef/na	170,828	8	<,001
Veehouder * Lactatiedagen	52,232	4	<,001
voor/proef/na * Lactatiedagen	3,786	2	,151

Dependent Variable: celgetal

Model: (Intercept), Veehouder, voor/proef/na, Lactatiedagen, Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen, Veehouder * voor/proef/na, Veehouder * Lactatiedagen, voor/proef/na * Lactatiedagen

Estimates

Veehouder	voor/proef/n	95% Wald Confidence Interval			
		Mean	Std. Error	Lower	Upper
1	na	206,29	26,682	154,00	258,59
	proef	128,95	19,043	91,63	166,28
	voor	325,17	18,778	288,37	361,98
2	na	114,40	124,000	-128,64	357,43
	proef	149,97	19,812	111,14	188,80
	voor	152,27	7,060	138,43	166,11
3	na	116,71	1,745	113,29	120,13
	proef	181,07	2,769	175,65	186,50
	voor	239,66	10,590	218,91	260,42
4	na	170,47	3,464	163,68	177,26
	proef	172,72	26,401	120,97	224,46
	voor	243,97	1,786	240,46	247,47
6	na	188,06	4,589	179,07	197,06
	proef	340,72	17,989	305,47	375,98
	voor	114,64	12,332	90,47	138,81

Covariates appearing in the model are fixed at the following values:

Lactatiedagen=197,92

5	na	97,65	1,313	95,07	100,22
	proef	69,45	1,443	66,62	72,28
	voor	90,05	1,273	87,55	92,54

P waarden

Bedrijf	Voor tov proef	Proef tov na
1	<0.001	0.018
2	0.913	0.777
3	<0.001	<0.001
4	0.007	0.933
5	<0.001	<0.001
6	<0.001	<0.001

Gecorrigeerd vet%

Tests of Model Effects

Source	Wald Chi-Square	Type III	Sig.
		df	
(Intercept)	898,288	1	<,001
Veehouder	63,374	4	<,001
voor/proef/na	1,067	2	,587
Lactatiedagen	28,050	1	<,001
Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen	338,236	8	<,001
Veehouder * voor/proef/na	333,556	8	<,001
Veehouder * Lactatiedagen	67,663	4	<,001
voor/proef/na * Lactatiedagen	,558	2	,756

Dependent Variable: Gecorrigeerd vet%

Model: (Intercept), Veehouder, voor/proef/na, Lactatiedagen, Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen, Veehouder * voor/proef/na, Veehouder * Lactatiedagen, voor/proef/na * Lactatiedagen

Estimates					
Veehouder	voor/proef/na			95% Wald Confidence Interval	
		Mean	Std. Error	Lower	Upper
1	na	4,8752348859 81647	,0549923048 57660	4,767451949 033786	4,9830178229 29508
	proef	4,1493293646 89182	,0341038984 87071	4,082486951 922113	4,2161717774 56251
	voor	4,5745996366 50578	,0359586531 05208	4,504121971 631800	4,6450773016 69355
2	na	4,6410519934 43281	,1556298103 82402	4,336023170 172974	4,9460808167 13587
	proef	4,9161650674 79890	,0331388013 33292	4,851214210 375810	4,9811159245 83969
	voor	4,7083998556 08903	,0130220942 00251	4,682877019 973123	4,7339226912 44683
3	na	4,5402075931 50500	,0094149285 70860	4,521754672 234597	4,5586605140 66403
	proef	4,5367865492 78935	,0132756099 94806	4,510766831 816316	4,5628062667 41555
	voor	4,6312755619 00020	,0086582913 07850	4,614305622 768979	4,6482455010 31062
4	na	4,3810817641 55645	,0071730441 47751	4,367022855 966537	4,3951406723 44752
	proef	4,2416983281 95503	,0247874679 22737	4,193115783 798997	4,2902808725 92009
	voor	4,5223366052 99738	,0395123541 55089	4,444893814 211371	4,5997793963 88104
6	na	4,4059848310 52026	,0072301754 00023	4,391813947 666074	4,4201557144 37979
	proef	4,4493467357 60412	,0225946232 62249	4,405062087 922152	4,4936313835 98672
	voor	4,6013202194 67645	,1023220858 33670	4,400772616 410635	4,8018678225 24655

Covariates appearing in the model are fixed at the following values:

Lactatiedagen=198,13

5	na	4,6345357084	,00802588521	4,6188052624	4,6502661544
	proef	4,5645988433	,01117177045	4,5427025756	4,5864951110
	voor	4,5292752222	,01222648685	4,5053117483	4,5532386961

P waarden

Bedrijf	Voor tov proef	Proef tov na
1	<0.001	<0.001
2	<0.001	0.084
3	<0.001	0.834
4	<0.001	<0.001
5	0.033	<0.001
6	0.147	0.068

Tests of Model Effects

Source	Wald Chi-Square	Type III	Sig.
		df	
(Intercept)	2826,219	1	<,001
Veehouder	66,711	4	<,001
voor/proef/na	11,935	2	,003
Lactatiedagen	2,292	1	,130
Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen	94,751	8	<,001
Veehouder * voor/proef/na	84,771	8	<,001
Veehouder * Lactatiedagen	54,334	4	<,001
voor/proef/na * Lactatiedagen	21,656	2	<,001

Dependent Variable: Gecorr. Eiwit

Model: (Intercept), Veehouder, voor/proef/na, Lactatiedagen,
 Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen, Veehouder *
 voor/proef/na, Veehouder * Lactatiedagen, voor/proef/na *
 Lactatiedagen

Estimates					
Veehouder	voor/proef/na			95% Wald Confidence Interval	
		Mean	Std. Error	Lower	Upper
1	na	3,6372342124 13435	,0298032446 22547	3,578820926 330806	3,6956474984 96063
	proef	3,5203454824 69240	,0153769462 73349	3,490207221 581267	3,5504837433 57212
	voor	3,6632026010 68916	,0218139719 44942	3,620448001 697063	3,7059572004 40769
2	na	3,8245848344 58807	,0820465538 05782	3,663776543 943846	3,9853931249 73767
	proef	3,7600020317 99409	,0089060562 62319	3,742546482 280977	3,7774575813 17842
	voor	3,7630343996 16306	,0040989148 26601	3,755000674 180470	3,7710681250 52141
3	na	3,4337308868 81419	,0058126656 41771	3,422338271 569374	3,4451235021 93463
	proef	3,4286320896 17939	,0017545239 25570	3,425193285 913807	3,4320708933 22071
	voor	3,4114657878 27058	,0049651766 94116	3,401734220 329712	3,4211973553 24404
4	na	3,4777411787 80067	,0031471049 57602	3,471572966 407600	3,4839093911 52535
	proef	3,4386065022 53042	,0186384606 12148	3,402075790 725964	3,4751372137 80120
	voor	3,9001170693 51985	,0551242979 25954	3,792075430 744059	4,0081587079 59912
6	na	3,5336557496 23994	,0054217494 23527	3,523029316 020681	3,5442821832 27307
	proef	3,4828872732 53596	,0075085425 82941	3,468170800 214645	3,4976037462 92546
	voor	3,6651190503 83647	,0178014734 42882	3,630228803 563852	3,7000092972 03443

Covariates appearing in the model are fixed at the following values:

Lactatiedagen=198,13

5	na	3,6430305406	,00467373281	3,6338701926	3,6521908886
	proef	3,6051461214	,00392562455	3,5974520386	3,6128402041
	voor	3,5534869020	,00606778568	3,5415942606	3,5653795434

P waarden

Bedrijf	Voor tov proef	Proef tov na
1	<0.001	<0.001
2	0.757	0.434
3	0.001	0.401
4	<0.001	0.038
5	<0.001	<0.001
6	<0.001	<0.001

Gecorrigeerde dagvetproductie

Tests of Model Effects

Source	Wald Chi-Square	Type III df	Sig.
(Intercept)	135,392	1	<,001
Veehouder	55,764	4	<,001
voor/proef/na	6,402	2	,041
Lactatiedagen	,629	1	,428
Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen	66,117	8	<,001
Veehouder * voor/proef/na	65,153	8	<,001
Veehouder * Lactatiedagen	40,086	4	<,001
voor/proef/na * Lactatiedagen	6,775	2	,034

Dependent Variable: Gecorr dagvetproductie

Model: (Intercept), Veehouder, voor/proef/na, Lactatiedagen,
Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen, Veehouder *
voor/proef/na, Veehouder * Lactatiedagen, voor/proef/na *
Lactatiedagen

Veehouder	voor/proef/na	Estimates			
		Mean	Std. Error	95% Wald Confidence Interval	
				Lower	Upper
1	na	1,3276372788 13292	,0204319183 86810	1,287591454 640083	1,3676831029 86501
	proef	1,1464576090 79133	,0175868788 32038	1,111987959 967868	1,1809272581 90397
	voor	1,2404891772 37264	,0163820076 56739	1,208381032 235597	1,2725973222 38931
2	na	1,3089615946 51516	,0509675911 52219	1,209066951 614405	1,4088562376 88626
	proef	1,3230439169 72194	,0207424911 53602	1,282389381 361494	1,3636984525 82894
	voor	1,3277493528 61363	,0054771129 42653	1,317014408 754505	1,3384842969 68221
3	na	1,3593343715 81934	,0053757770 33303	1,348798042 207742	1,3698707009 56126
	proef	1,3224134098 06343	,0583830305 33604	1,207984772 652177	1,4368420469 60508
	voor	1,3881774254 27644	,0057707905 16236	1,376866883 853496	1,3994879670 01792
4	na	1,4367681843 32087	,0048310557 36451	1,427299489 081337	1,4462368795 82836
	proef	1,4672034572 73332	,0488065255 01663	1,371544425 079538	1,5628624894 67127
	voor	1,2591965506 47075	,0272517116 08494	1,205784177 377354	1,3126089239 16795
5	na	1,4809611857 68821	,0059251476 74655	1,469348109 723417	1,4925742618 14225
	proef	1,3969926768 23353	,0059124429 83916	1,385404501 514232	1,4085808521 32473
	voor	1,4830482476 08140	,0065086662 73228	1,470291496 125223	1,4958049990 91057
6	na	1,4639489556 99975	,0118947722 83511	1,440635630 419987	1,4872622809 79962
	proef	1,4593482802 73742	,0103827914 26943	1,438998383 017942	1,4796981775 29542
	voor	1,4166477802 53421	,0401523725 75959	1,337950576 110707	1,4953449843 96136

Covariates appearing in the model are fixed at the following values:

Lactatiedagen=198,46

P waarden

Bedrijf	Voor tov proef	Proef tov na
1	<0.001	<0.001
2	0.826	0.798
3	0.262	0.529
4	<0.001	0.535
5	<0.001	<0.001
6	0.303	0.771

Gecorrigeerde dageiwitproductie

Tests of Model Effects

Source	Wald Chi-Square	Type III df	Sig.
(Intercept)	173,197	1	<,001
Veehouder	97,821	4	<,001
voor/proef/na	4,811	2	,090
Lactatiedagen	4,940	1	,026
Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen	19,521	8	,012
Veehouder * voor/proef/na	21,342	8	,006
Veehouder * Lactatiedagen	76,379	4	<,001
voor/proef/na * Lactatiedagen	4,871	2	,088

Dependent Variable: Gecor dageiwit prod

Model: (Intercept), Veehouder, voor/proef/na, Lactatiedagen,
Veehouder * voor/proef/na * Lactatiedagen, Veehouder *
voor/proef/na, Veehouder * Lactatiedagen, voor/proef/na *
Lactatiedagen

Veehouder	voor/proef/na	Estimates		95% Wald Confidence Interval	
		Mean	Std. Error	Lower	Upper
1	na	,99079021378 5498	,0150404790 72518	,9613114164 93135	1,0202690110 77862
	proef	,96867610617 4957	,0102598477 00996	,9485671741 94140	,98878503815 5774
	voor	,99302327292 8944	,0134133875 17034	,9667335164 84877	1,0193130293 73010
2	na	1,0811102922 88711	,0536433179 40261	,9759713211 14568	1,1862492634 62855
	proef	1,0120578439 38388	,0146801081 31101	,9832853607 12277	1,0408303271 64500
	voor	1,0609633141 77413	,0041488368 73521	1,052831743 327581	1,0690948850 27245
3	na	1,0279955519 25303	,0044551023 59811	1,019263711 752634	1,0367273920 97973
	proef	,99968062590 9478	,0440659478 94270	,9133129550 92090	1,0860482967 26866
	voor	1,0220690349 15044	,0044712971 76887	1,013305453 484170	1,0308326163 45918
4	na	1,1402011103 99294	,0040687895 23714	1,132226429 472140	1,1481757913 26447
	proef	1,1868093861 94488	,0369748091 65930	1,114340091 894024	1,2592786804 94952
	voor	1,1012204276 34208	,0280717217 64075	1,046200863 992591	1,1562399912 75825
5	na	1,1667759175 64695	,0042771478 14035	1,158392861 892632	1,1751589732 36758
	proef	1,1088215827 78441	,0047268236 87047	1,099557178 590558	1,1180859869 66324
	voor	1,1665850682 48990	,0056865551 59238	1,155439624 940783	1,1777305115 57198
6	na	1,1732996916 22501	,0091942379 24773	1,155279316 424654	1,1913200668 20347
	proef	1,1408745170 91054	,0086633415 84790	1,123894679 599097	1,1578543545 83010
	voor	1,1222470636 82282	,0324676234 45662	1,058611691 065176	1,1858824362 99388

Covariates appearing in the model are fixed at the following values:

Lactatiedagen=198,46

P waarden

Bedrijf	Voor tov proef	Proef tov na
1	0.149	0.225
2	0.001	0.214
3	0.613	0.523
4	0.065	0.210
5	<0.001	<0.001
6	0.579	0.010