

## SIANLIHAN TUOTANTOKETJUN KANNATTAVUUDEN PARANTAMINEN SEKÄ YMPÄRISTÖKUORMAN PIENENTÄMINEN JUOMAVEDEN VETYKÄSITTELYLLÄ

MMM-projekti Dnro 2056/312/2011

Alimetricsin loppuraportti 26.2.2014

### **Johtopäätökset:**

- Vedytys vaikutti positiivisesti sikojen päiväkasvuun, mutta samalla ruhojen lihaprosentti laski. Taloudellinen hyöty ei ollut tilastollisesti merkitsevä verrattuna kontrolliryhmään.
- Sontanäytteiden mikrobien kokonaismäärä sekä streptokokkien määrä väheni vedytyksen seurauksena viimeisessä mittauspisteessä. Tämä tulos on linjassa sikojen paremman kasvun kanssa ja voi hyvin mahdollisesti olla indikaattori ravinnon tehostuneesta imeytymisestä ohutsuolessa.
- Vedytys vähensi myös potentiaalisesti haitallisten kolibakteerien määrää sontanäytteissä.
- Ammoniakin määrässä ei havaittu hypoteesin mukaista laskua.
- *Echerichia coli* -spaikkauskoe ei selventänyt vedytyslaitteen toimintaperiaatetta.

## 1. Työn taustaa

Veden puhdistukseen on jo vuosikymmeniä käytetty titaanioksidirakeita, joita UV-valolla käsittelemällä saadaan aikaan voimakkaita pelkistysreaktioita ja siten veden epäpuhtauksien häviäminen. Puhdistumisreaktioiden sivutuotteena veteen syntyy vetykaasua. Kuvassa 1. on esimerkki puhdistusyksiköstä, joka sisältää titaanioksidipellettejä.



**Kuva 1.** Esimerkkikuva kokeessa käytetystä vedytysyksiköstä.

Keksinnön taustalla ovat hyvin yksinkertaiset havainnot muutamilla sikatiloilla, joissa on kokeiltu titaanioksidipohjaista vedenpuhdistusta. Veden vetykäsittelyllä on havaittu olleen positiivisia vaikutuksia sikojen päiväkasvuun, hännänpurentaan, ruoansulatusongelmiin sekä lannan hajuhaittoihin. Nämä kaikki havainnot viittaavat siihen, että juomaveden kautta ruoansulatuskanavaan kulkeutuva vety lisää valkuaisen sulavuutta eläimessä. Parantuneet kasvutulokset kertovat kasvua rajoittavien valkuaisaineiden paremmasta imeytyvyydestä. Vähentyneet ruoansulatusvaivat indikoivat vähentynyttä paksusuolen virhekäymistä, joka osaltaan selittyy pienentyneestä valkuaisen kulkeutumisesta alempaan ruoansulatuskanavaan. Sonnan ammoniakkipitoisuuden lasku ja hajuhaittojen pienentyminen myös viittaavat vahvasti rehuvalkuaisen parempaan hyväksikäyttöön. Vedytys saattaa myös suojata rehun tyydyttymättömiä rasvahappoja sekä muita ravintoaineita, kuten E-vitamiinia vatsalaukun voimakkaasti hapettavilta olosuhteilta.

## 2. Työn tavoitteet

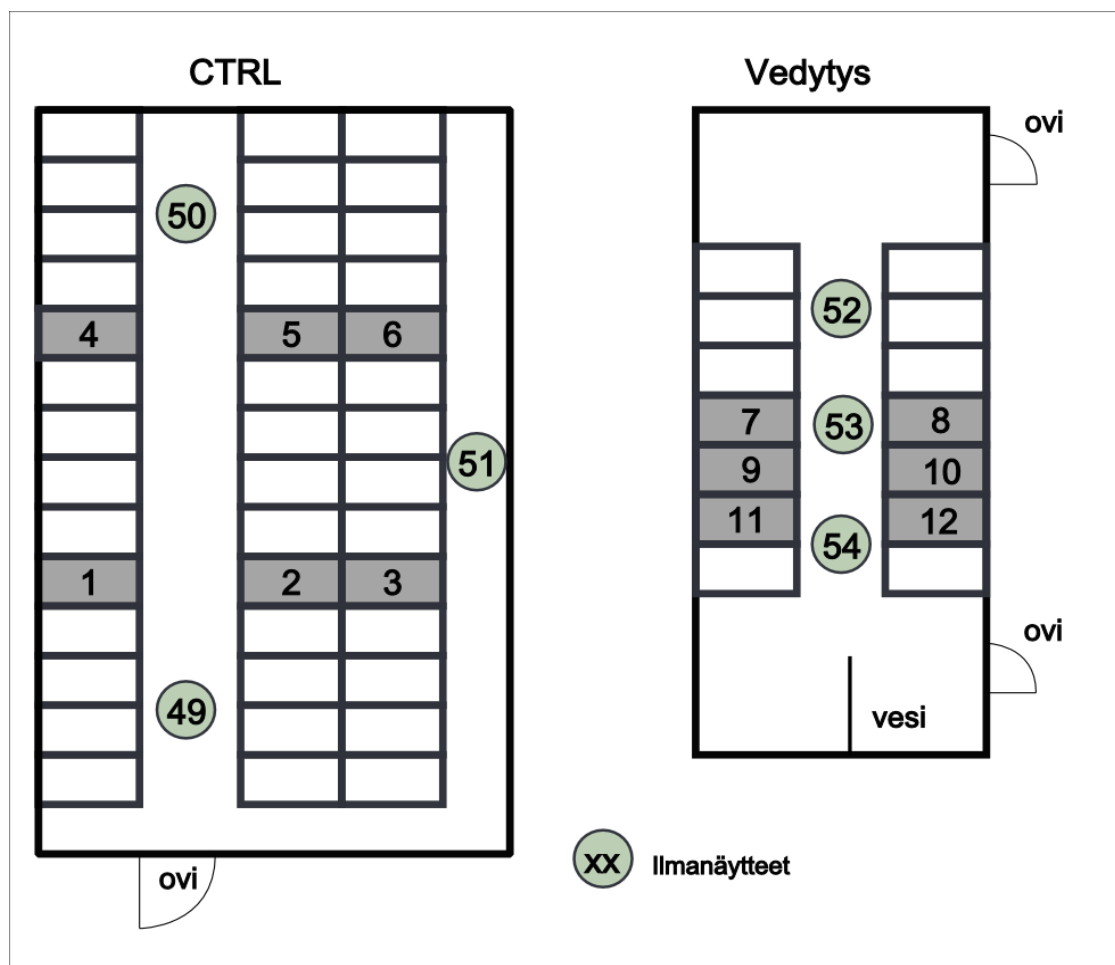
Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää parantaako juomaveden vedytys valkuaisen imeytymistä ja onko sillä mahdollisesti vaikutusta eläimen hyvinvointiin. Samalla kartoitettiin myös laitteiston mahdollisia positiivisia ympäristövaikutuksia. Yhtenä hypoteesina oli, että juomaveden vetykäsittely parantaa sikojen päiväkasvua. Lisäksi vedytyslaitteistolla voisi olla vähentävä vaikutus sikojen terveysongelmiin.

### 3. Aineisto ja menetelmät

#### 3.1. Koejärjestelyt

Varsinainen kasvatuskoe suoritettiin Turun pohjoispuolella Ruskolla HK-Ruokatalon sopimustilalla. Koe alkoi 8.10.2012 ja päättyi 18.1.2013. Kokeeseen osallistui 48 välityksikäistä sikaa, joista 24 oli imisää ja 24 leikkaa. Koesiat jaettiin tilalla kahteen eri koeryhmään, jotka sijaitsivat eri rakennuksissa. Toiseen rakennuksista oli asennettu veden vedytyslaitteisto. Optimaalinen tilanne olisi ollut, että molemmat ryhmät olisivat olleet samassa rakennuksessa. Vedytyslaitteiston asentaminen yhteen rakennukseen niin, että osa vedestä ei olisi ollut käsiteltyä, ei kuitenkaan ollut mahdollista.

Molemmissa rakennuksissa oli 24 koesikaa, joista puolet olivat imisiöitä ja puolet leikkoja. Molemmissa rakennuksissa koesiat jaettiin edelleen karsinoihin niin, että kuuteen karsinaan laitettiin kuhunkin kaksi imisää ja kaksi leikkaa. Kokeessa käytetyt karsinat on merkitty kuvaan 2. Koeryhmät muodostuivat siten, että toinen ryhmä oli kontrolli joka sai käsittelemätöntä juomavettä ja toinen ryhmä sai vedytyslaitteistolla käsiteltyä vettä. Koesiat merkittiin korvamerkeillä niiden saapumispäivänä.



**Kuva 2.** Kokeessa käytetyt karsinat kontrollirakennuksessa (vasen puoli) sekä vedytysrakennuksessa (oikea puoli). Vihreillä ympyröillä on merkitty paikat, joista ilmanäytteet otettiin.

### **3.2. Ruokinta ja näytteiden otto**

Siat ruokittiin kaksivaiheruokinnalla ja tilalla oli käytössä kuivaruokinta. Vilja jauhettiin kuivaruokkijan vasaramyllyssä, jauhetun viljan ja puolitiivisteiden suhdetta säädettiin taajuusmuuntajaohjauksella, jonka jälkeen rehut sekoitettiin myllyn ruuvissa. Molempiin rakennuksiin tuli koostumukseltaan samanlaista rehua. Alkukasvatusvaiheessa siat saivat rehua syöntihalun mukaan. Loppukasvatusvaiheessa rehun saantikertoja rajoitettiin. Alkukasvatusrehu oli koostumukseltaan 42% puolitiivistettä (Rehuraision rypsi puolitiiviste 1) ja 58% ohraa. Loppukasvatusvaiheessa rehusta oli 40% puolitiivistettä (Rehuraision rypsi puolitiiviste 2) ja 60% ohraa. Molemmilla koeryhmillä oli juomavettä tarjolla vapaasti.

Koesiat punnittiin kokeen aloituspäivänä ja ennen loppukasvatusrehulle siirtymistä. Koesikojen ruhon paino ja lihaprosentti saatiin teurastamolta. Jokaiselta koesialta kerättiin sontanäytteitä kokeen aloituspäivänä ja ruokintavaiheiden lopussa, yhteensä sonnan keruupäiviä oli kolme. Ilmanäytteitä kerättiin myös kolmena päivänä kokeen aloituspäivänä ja ruokintavaiheiden lopussa. Ilmanäytteet kerättiin 100 ml ruiskulla, joista ilma injektioitiin vakumoituun lasipulloon. Ilmanäytteet kerättiin kummastakin rakennuksesta kolmesta kohtaa ja mittauspaikka oli aina samassa paikassa.

Molemmista rakennuksista kerättiin pehkunäytteitä edellisen kasvatuserän lopussa kolmesta karsinasta. Pehkunäytteet kerättiin myös kaikista koekarsinoista viimeisen ruokintavaiheen lopussa. Pehkunäytteet koostuivat kuivuneesta sonnasta, sahanpurusta ja rehusta. Näytteet otettiin molemmilla kerroilla juuri ennen kuin siat lähtivät teuraaksi, joten tulokset ovat sikojen kasvatusvaiheen suhteen vertailukelpoisia.

### **3.3. Näytteiden analysointi**

#### **3.3.1 Haihtuvat rasvahapot, maitohappo, ammoniakki ja qPCR-määritykset**

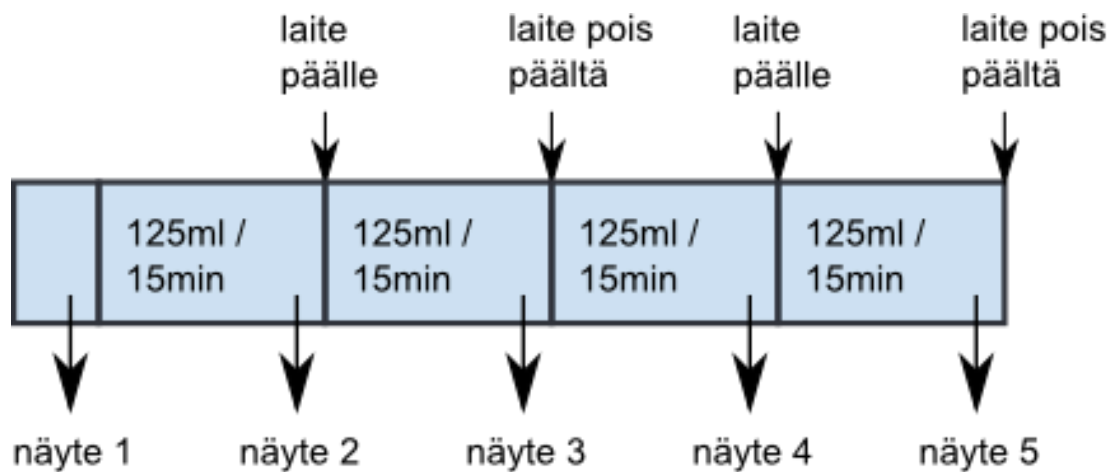
Sontanäytteistä analysoitiin haihtuvat rasvahapot ja maitohappo sekä ammoniakkipitoisuudet. Rasvahapot analysoitiin kaasukromatografilla käyttäen pakattua kolonnia. Ammoniakki määritettiin sontanäytteistä, ilmanäytteistä ja pehkunäytteistä kolorimetrisellä menetelmällä, jossa näytteeseen lisätyn reagenssin emittoima valointensiteetti oli verrannollinen vapaan ammoniakin määrään näytteessä. Intensiteetit mitattiin kolorimetrillä ja tulos muutettiin millimooliksi per litra (mM) standardin avulla.

Sontanäytteistä määritettiin lisäksi mikrobiston lajikoostumus. Näytteet lyysattiin sekä mekaanisesti että entsyymaattisesti. Tämän jälkeen kromosomaalinen DNA eristettiin ja mikrobien määrä näytteissä määritettiin kvantitatiivisella (q)PCR –menetelmällä. Näytteistä määritettiin kymmen eri mikrobiryhmää mukaanlukien kokonaismikrobit.

### **3.4. Echerichia coli -spaikkauskoe**

Vetykäsittelyn vaikutusta juomaveden laatuun tutkittiin laboratorio-olosuhteissa spaikkaamalla vettä *E. coli* –bakteerilla. Kokeessa veteen lisättiin *E. coli* –bakteeria kahdella eri tasolla ( $4.8 \cdot 10^3$  ja  $4.8 \cdot 10^6$  pmy/ml). Nämä konsentraatiot tehtiin yön yli kasvatetusta tuoreesta *E. coli* -viljelystä laimentamalla. Koe suoritettiin Johematicin toimittamalla

demolaitteella, johon syötettiin vettä tasaisella 500 ml/h nopeudella. Kokeessa käytetty vesi oli otettu samalta tilalta, jossa kasvatuskoe suoritettiin. Kuten kuvasta 3 näkyy, vedestä otettiin näytteitä useammassa pisteessä: ennen vedytyskäsittelyä (näyte 1), kaksi kertaa vedytyslaitteen ollessa päällä (näytteet 3 ja 5) ja kaksi kertaa vedytyslaitteen ollessa pois päältä (näytteet 2 ja 4). Koejärjestely suoritettiin ensin alhaisemmalla *E. coli* konsentraatiolla, jonka jälkeen koe toistettiin korkeammalla konsentraatiolla. Laitteen UV-lampun annettiin olla päällä/pois päältä aina 15 minuuttia ennen näytteenottoa, jotta vesi josta näyte otettiin, olisi varmasti kiertänyt järjestelmän läpi kokonaisuudessaan ja vedytyslaitteella oli aikaa vaikuttaa veteen. *E. coli* määrä kussakin näytteessä arvioitiin MPN-analyysillä (Thomas, 1942). MPN-analyysi tehtiin neljällä rinnakkaisella steriilillä 96-kuoppalevyllä käyttäen TSB:tä kasvualustana. Näytteitä inkuboitii 24 tuntia 37°C lämpötilassa.



Kuva 3. Havainnekuva *E. coli* -spaiikkauskokeen suorituksesta.

### 3.5. Tilastolliset analyysit

Tulosten tilastollisissa analyyseissä käytettiin varianssianalyysiä (ANOVA), sekä post-hoc testinä Tukeyn testiä. ANOVAssa kunkin muuttujan vaikutusta tulokseen arvioidaan sen selittämän hajonnan perusteella. Tämän kokeen tuloksia analysoidessa otettiin huomioon testiryhmä (CTRL, vedytys), sukupuoli (imisä, leikko) sekä ajallinen vaikutus.

Tukeyn testissa kullekin ryhmälle määritetään nimike, joka kertoo sen ryhmän tilastollisista eroista verrattuna muihin ryhmiin. Nimike A annetaan ryhmälle, joka on keskiarvoltaan suurin ja kirjaimet jatkuvat aakkosten mukaan. Esimerkiksi ryhmä, jonka nimike on A, ei eroa tilastollisesti merkittävästi ryhmästä, jonka nimike on AB. Sen sijaan esimerkiksi B eroaa tilastollisesti merkittävästi CD:stä.

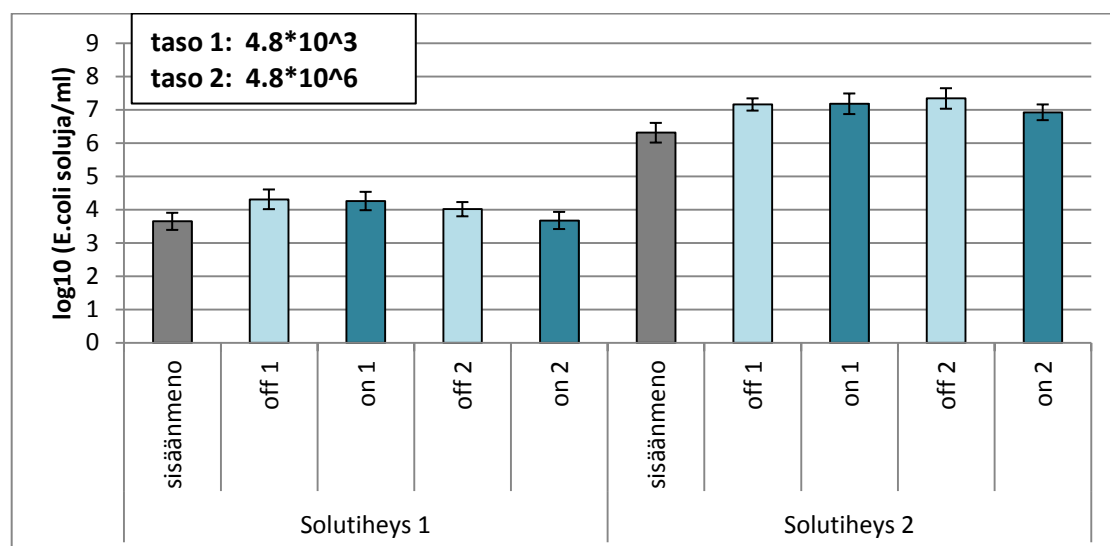
Sikojen ruhon arvo määritettiin HK:n tietämyksen perusteella. Ruholle määräytyy teuraspainon perusteella kilohinta, joka on pohjana laskelmissa. 75-100 kiloille ruhoille kilohinta on n. 1.5€/kg. Alle 75 kiloille ja yli 100 kiloille ruhoille kilohinta on hieman matalampi. Lihaprosentti vaikuttaa kilohintaan 0.02 €/%, eli yhden prosenttiyksikön lasku lihaprosentissa laskee ruhosta saatavaa kilohintaa 0.02€. Oletuksena liha-% on 59.5-60.5.

## 4. Tulokset ja tulosten tarkastelu

### 4.1. *Echerichia coli* -spaikkauskoe

Spaikkauskokeen tulokset kertoivat koejärjestelyn onnistuneen hyvin. Mitatut *E. coli* -tasot sisäänmenevästä vedestä olivat halutulla testitasolla. Lisäksi testitasot erottuivat toisistaan selkeästi, eli kokeen skaalaus eri konsentraatioille onnistui erinomaisesti. Rinnakkaisten MPN-määritysten välillä havaittiin noin puolen dekadin suuruista hajontaa, minkä ansiosta koejärjestelyllä kyettiin erottamaan n. dekadin suuruisia eroja.

Vaikka *E. coli* -solujen tiheys vaihtelikin laitteen ollessa pois päältä ja päällä, ei laitteella ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta mikrobiitiheyteen (Kuva 4). Tämä kertoo siitä, että laitteen toimintaperiaate ei todennäköisesti perustu (patogeenisten) mikrobien inhiboimiseen. Kokeessa käytetty Johematicin toimittama demolaitteisto lämpeni kokeen aikana yli 30°C:een, mitä ei oletettavasti tapahdu itse eläinkokeessa käytetyillä laitteistolla.



**Kuva 4.** *Echerichia coli* -spaikkauskokeen mittaustulokset. Yksikkönä *E. coli* solujen määrä/ml vettä. HUOM: logaritminen asteikko.

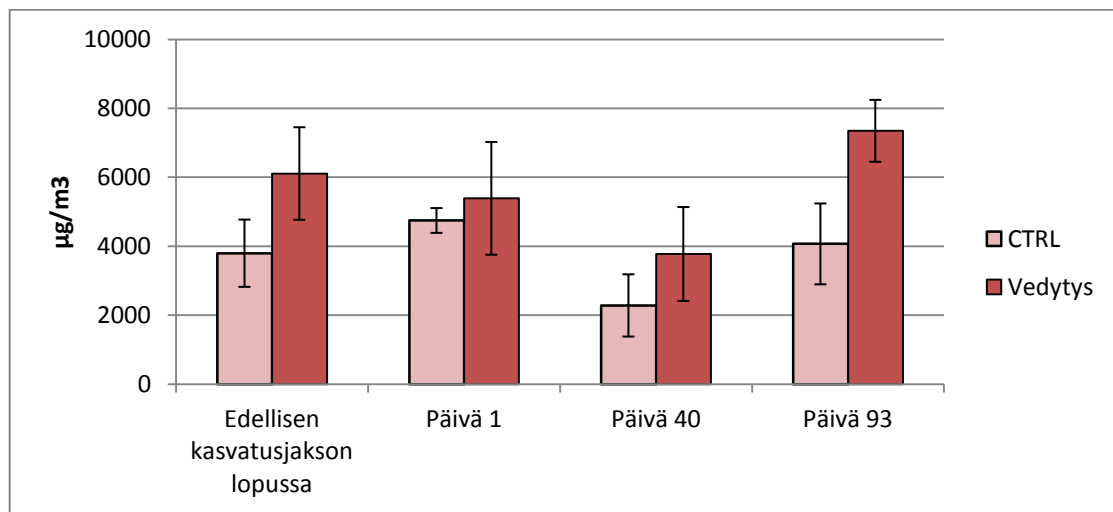
### 4.2. Pehku- ja ilmanäytteet

Pehkunäytteiden koostumus vaihteli huomattavasti kiinteyden osalta, mikä vaikuttaa tuloksiin. Tästä johtuen niille ei voi antaa kovin paljon painoarvoa. Vedytys laski ammoniakkin konsentraatiota alle puoleen verrattuna edellisen kasvatuserän lopputilanteeseen (Taulukko 1). Kontrolliryhmässä ammoniakkin määrä kuitenkin nousi huomattavasti, mikä tarkoittaa että näytteenottohetkellä yms. tekijöillä on vaikutusta näytteen koostumukseen ja siten ammoniakkin konsentraatioon. Nitraatin ja nitriitin määrä oli päinvastainen ammoniakkin määrään verrattuna; jos ammoniakkin määrä oli suuri, vastaavasti nitraattia/nitriittiä oli vähemmän ja päinvastoin. Tämä ilmiö liittyy typen kiertokulkuun, missä nitrifioivat bakteerit muuttavat ammoniakkia nitriiteiksi hapen läsnäollessa.

**Taulukko 1.** Ammoniakin määrä pehkunäytteissä.

|                | Edellinen kasvatuserä | Vedytyskoe |
|----------------|-----------------------|------------|
| <b>CTRL</b>    | 2.73                  | 11.97      |
| <b>Vedytys</b> | 15.73                 | 5.90       |
|                | mM                    | mM         |

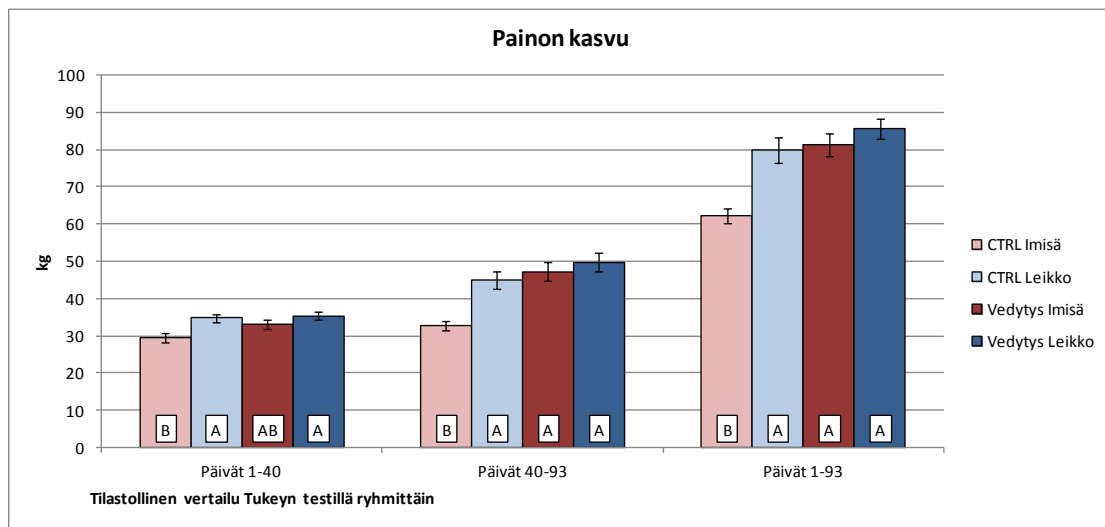
Tuotantoeläinten hyvinvoinnin perusedellytyksiin kuuluu hyvä hengitysilmä tuotantoeläinrakennuksessa. Suomen vaihtuvissa ilmasto-olosuhteissa ilmanvaihdon hallinta on usein haastavaa. Sikalarakennukset poikkesivat ilmanvaidoltaan toisistaan. Varsinkin kokeen loppukasvatusvaiheessa rakennuksessa, johon oli asennettu vedytyslaitteisto oli selkeästi korkeampi sisälämpötila ja ilmankosteus verrattuna kontrollirakennukseen. Korkea sisälämpötila edesauttaa ammoniakin emittoitumista lattialla olevasta sonnasta, joka osaltaan selittää vedytysrakennuksen korkeammat ammoniakkipitoisuudet. Kuvassa 5. esitetään molempien rakennuksien ammoniakin määrä ilmanäytteissä. Paikalliset sääolosuhteet näytteenottohetkellä, rakennusten erilaisuus sekä sikalan sisälämpötila vaikuttavat tuloksiin ja aiheuttavat suurta hajontaa tuloksiin.



**Kuva 5.** Ammoniakin määrä ilmanäytteissä. Virherajat kertovat kolmen rinnakkaisen mittauksen standardivirheen.

#### 4.3. Sikojen tuotantotulokset

Koesikojen painon kasvua seurattiin koko kokeen ajan (kuva 6). Tulokset osoittivat, että sukupuoli vaikutti painon kasvuun koesioilla. Imisijät kasvoivat paremmin vedytysrakennuksessa verrattuna kontrollirakennukseen. Ero oli erityisen suuri sikojen toisella ruokintajaksolla. Leikoilla erot painojen kasvussa rakennusten välillä eivät olleet tilastollisesti merkitseviä, mutta myös vedytysrakennuksen leikot olivat keskiarvoltaan painavampia kuin kontrollirakennuksen.



**Kuva 6.** Sikojen painon kasvu jaettuna CTRL/Vedytys ja imisä/leikko ryhmiin. Vasemmalla painon muutos päivästä 1 päivään 40, keskellä päivästä 40 päivään 93 ja oikealla painon muutos koko kokeen ajalta. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä.

Vedytysrakennuksen sikojen teuraspainot olivat suurempia kuin kontrollirakennuksen sioilla (kuva 7. ylempi paneeli). Ero painoissa on tilastollisesti merkitsevä imisiöllä. Sikojen sukupuoli vaikuttaa myös teuraspainoihin, imisijöiden teuraspainot olivat pienempiä molemmissa rakennuksissa verrattuna leikkojen teuraspainoihin. Sian ruhon koostumus muuttuu sian elopainon lisääntyessä, ruhon rasvan määrä lisääntyy koon kasvaessa ja vastaavasti lihaprosentti laskee.

Kuten kuvan 7 alemmassa paneelissa näkyy, myös tässä kokeessa lisääntynyt teuraspaino tarkoitti myös alhaisempaa lihaprosenttia. Sukupuoli vaikuttaa lihaprosenttiin, imisijöillä oli korkeampi lihaprosentti verrattuna leikkoihin. Vedytysrakennuksen sioilla oli matalampi lihaprosentti verrattuna kontrollirakennukseen. Taulukossa 2 tulokset on esitetty tulokset niin, että koeysikkönä on käytetty karsinaa. Tämä vaikuttaa ryhmien keskiarvoihin aavistuksen, mutta tilastolliset erot ovat silti merkitseviä. Taulukossa laskettu tuotetun lihan määrä ei eroa tilastollisesti merkitsevästi ryhmien välillä.

Teuraspainot ja lihaprosentit saatiin myös kokeen ulkopuolisilta sioilta. Kuvassa 8 koesikojen teuraspainoa ja lihaprosenttia verrattiin rakennusten muihin sikoihin. Koska teurastiedoissa ei ollut sukupuolta, on kuvissa esitettyinä kaikkien sikojen keskiarvo. Tulokset olivat samankaltaisia kuin koesioilla, eli vedytys-rakennuksen siat kasvoivat paremmin, mutta niillä oli huonompi lihaprosentti verrattuna kontrollirakennukseen. Aineistosta voidaan myös vetää johtopäätös, että koe olisi hyvä suorittaa suuremmalla koesikojen määrällä. Kontrollirakennuksessa koesikojen paino poikkeaa koko rakennuksen keskipainosta. Lisäksi hajonta on pienempää, kun aineistoa on enemmän.

Vedytysrakennuksessa kaksi sikaa kuoli kokeen aikana jalkavaivoihin. Lisäksi kolmas sika ei lähtenyt teuraaksi niinkään jalkavaivojen takia. Tämä kuolleisuus ei aiheutunut käsittelystä, mutta vaikuttaa silti aineiston tilastolliseen käsittelyyn.

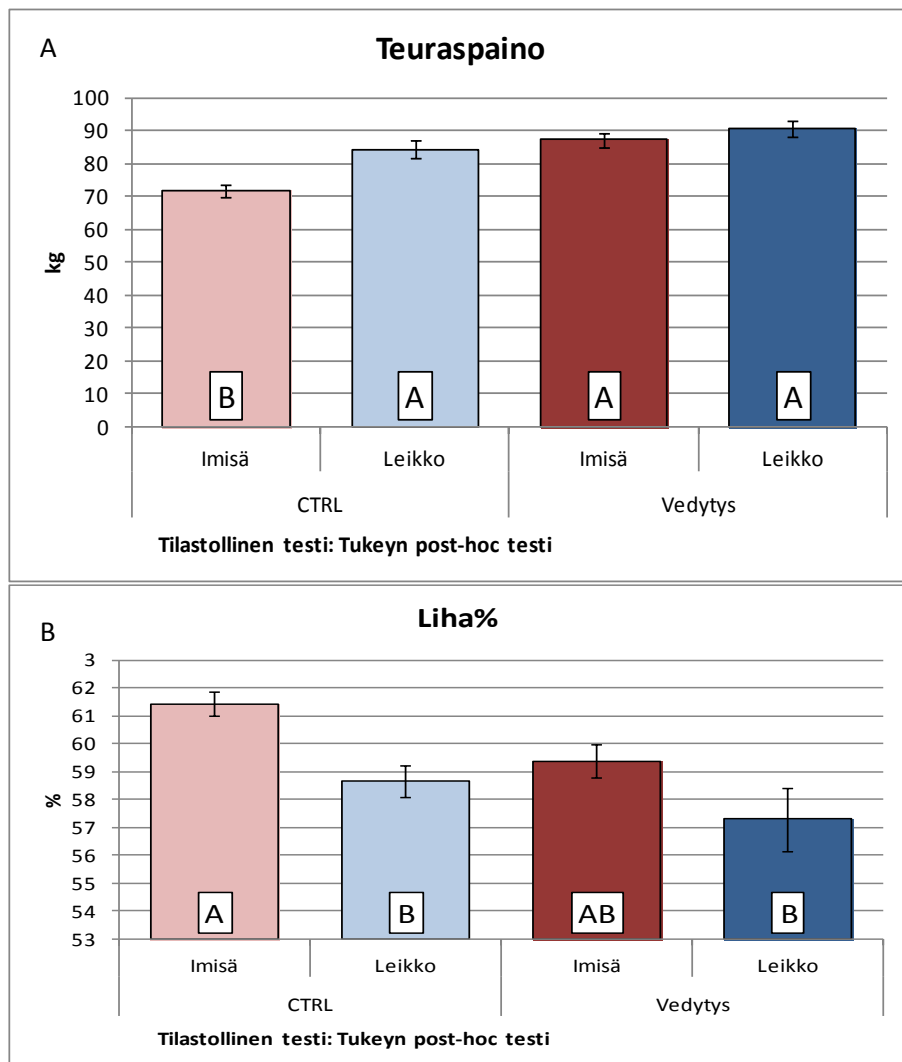


Ruhojen arvoa arvioitiin HK:n tilastoihin perustuen. Jos kuolleisuutta ei oteta huomioon, on kontrolliryhmän ruhon keskimääräinen arvo 109.42 €, ja vedytysryhmän 123.04 €. Ero on tilastollisesti merkitsevä (Student p-arvo 0.02). Mikäli otetaan huomioon vedytysryhmän kuolleet siat, ei ryhmien välinen taloudellinen hyöty kuitenkaan ole tilastollisesti merkitsevä, koska vedytysryhmän keskimääräinen ruhon arvo on tällöin 107.66 €.

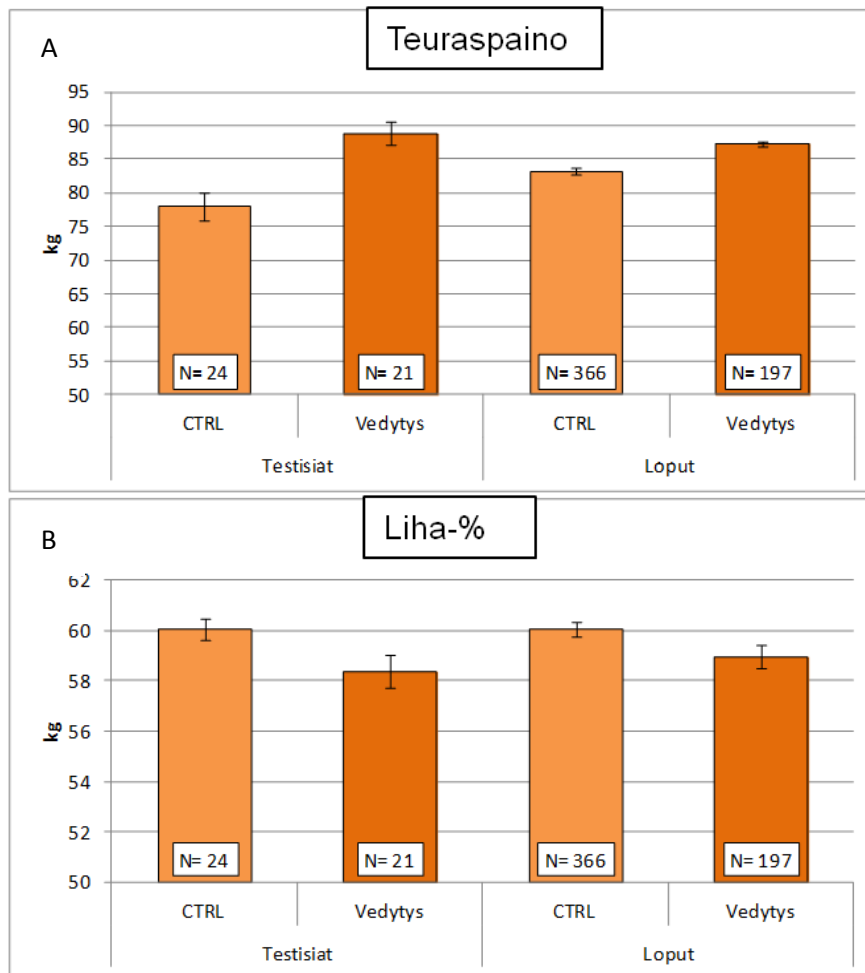
**Taulukko 2.** Sikojen tuotantotulokset testiryhmissä. Tilastollinen käsittely karsinoittain

|                  | Teuraspaino, kg | Liha-% | Lihan määrä* | Painon kasvu, kg |       |         | Päiväkasvu, g/pv |
|------------------|-----------------|--------|--------------|------------------|-------|---------|------------------|
|                  |                 |        |              | 1-40             | 40-93 | 1-93    |                  |
| CTRL             | 77.92           | 60.05  | 46.62        | 32.15            | 38.88 | 71.02   | 0.76             |
| Vedytys          | 88.65           | 58.40  | 45.22        | 34.25            | 48.03 | 83.17   | 0.89             |
| p-arvo (Student) | < 0.001         | 0.088  | 0.162        | 0.077            | 0.005 | < 0.001 | < 0.001          |

\*Lihan määrä on laskettua (teuraspaino x liha-%). Lisäksi kuolleet siat on huomioitu.



**Kuva 7 A ja B.** Sikojen teuraspaino (ylempi paneeli) sekä lihaprosentti (alempi paneeli) koesioilla. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä.



**Kuva 8 A ja B.** Sikojen teuraspaino (ylempi paneeli) sekä lihaprosentti (alempi paneeli) erikseen testisioille ja loppuille kokeen ulkopuolisille sioille.

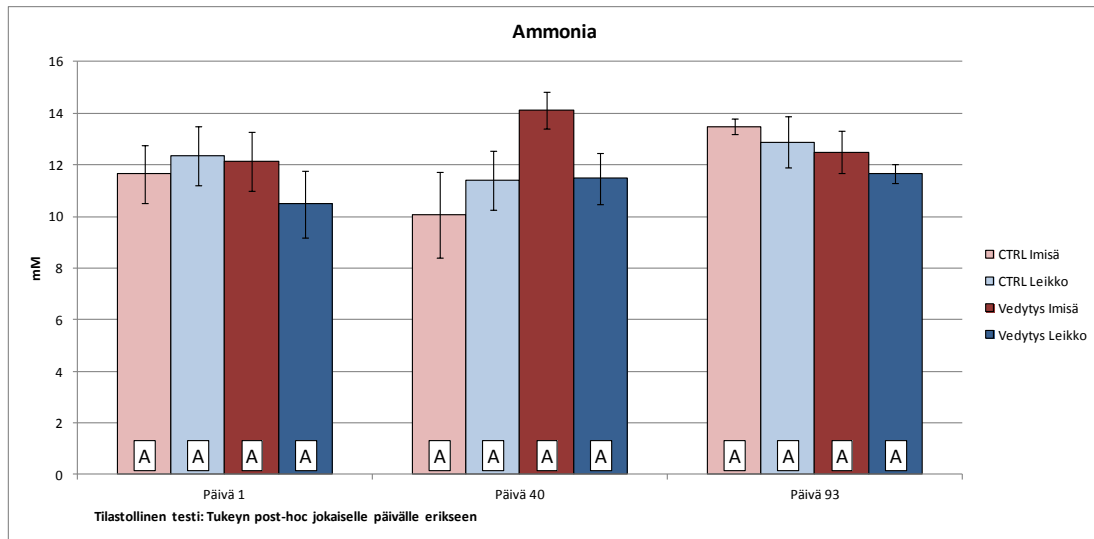
#### **4.4. Ammoniakki, rasvahappo- ja mikrobianalyysit sontanäytteistä**

##### **4.4.1 Ammoniakki**

Ammoniakki syntyy paksusuolella proteiini-fermentaation yhteydessä. Sitä syntyy aminohappojen hapettavan/pelkistävän deaminaation seurauksena. Ammoniakin syntyy estyy, mikäli suolen mikrobeille löytyy fermentoitava hiilihydraattipitoinen energianlähde.

Sontanäytteissä ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja ammoniakin konsentraatioissa (kuva 9). Hajonta tuloksissa oli pienempää kuin ilman ammoniakkimäärityksissä (kuva 5), johtuen osittain suuremmasta näytemäärästä. Tuloksissa ei havaittu viitteitä hypoteesin

mukaisesta ammoniakkin konsentraation laskusta vedytyksen vaikutuksesta. Ajallisesti ammoniakkin konsentraatio pysyy muuttumattomana sontanäytteissä. Myöskään sukupuolten välillä ei havaittua tilastollisesti merkitsevää eroa.

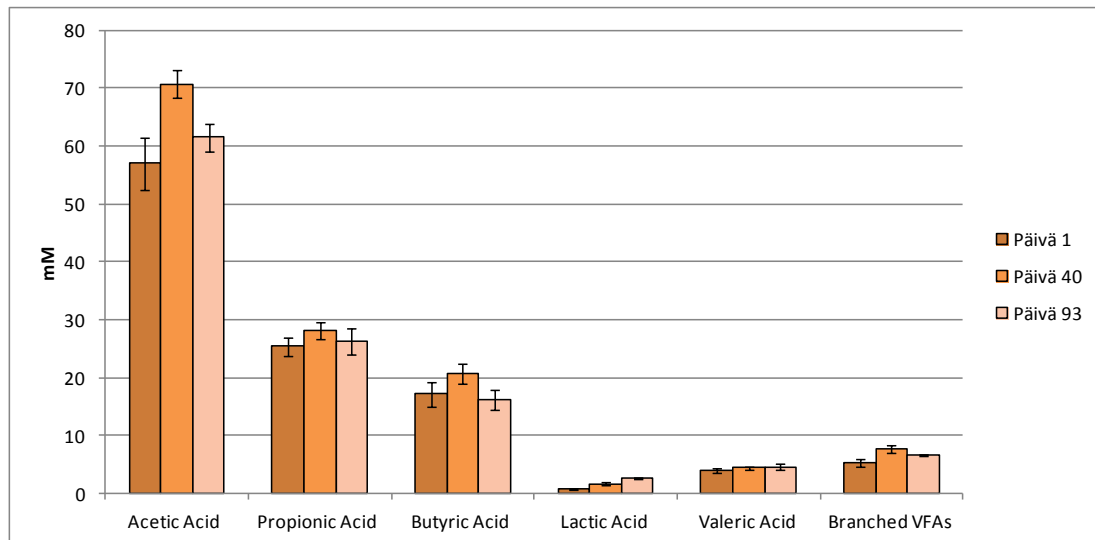


**Kuva 9.** Ammoniakin konsentraatio sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä.

#### 4.4.2 Lyhytketjuiset rasvahapot

Suoliston mikrobifermentaation tärkeimmät lopputuotteet ovat lyhytketjuiset rasvahapot (short-chain fatty acids, SCFA). Niistä tärkeimmät ovat asetaatti, butyraatti, propionaatti ja maitohappo. Eläin käyttää jopa 95% hiilihydraattifermentaatiosta tuotetuista rasvahapoista. Eri solut ovat erikoistuneet käyttämään rasvahappoja energialähteenä; asetaatti ja propionaatti tarjoavat energiaa aivoille, lihaksille ja sydämille kun taas butyraatti on suolen epiteelisolujen mieluisin energian lähde.

Kuvassa 10 on esitetty kaikkien näytteiden keskiarvoiset rasvahappo-konsentraatiot. Etikkahapon osuus oli selvästi suurin (60 mM), propionihappo (30 mM) ja butaanihappo (20 mM) olivat seuraavaksi yleisimmät hapot. Maitohappoa, valeriaanahappoa sekä haaroittuneita rasvahappoja oli alle 10 mM.



**Kuva 10.** Lyhyketjuisten rasvahappojen konsentraatio eri näytteenottopäivinä (mM).

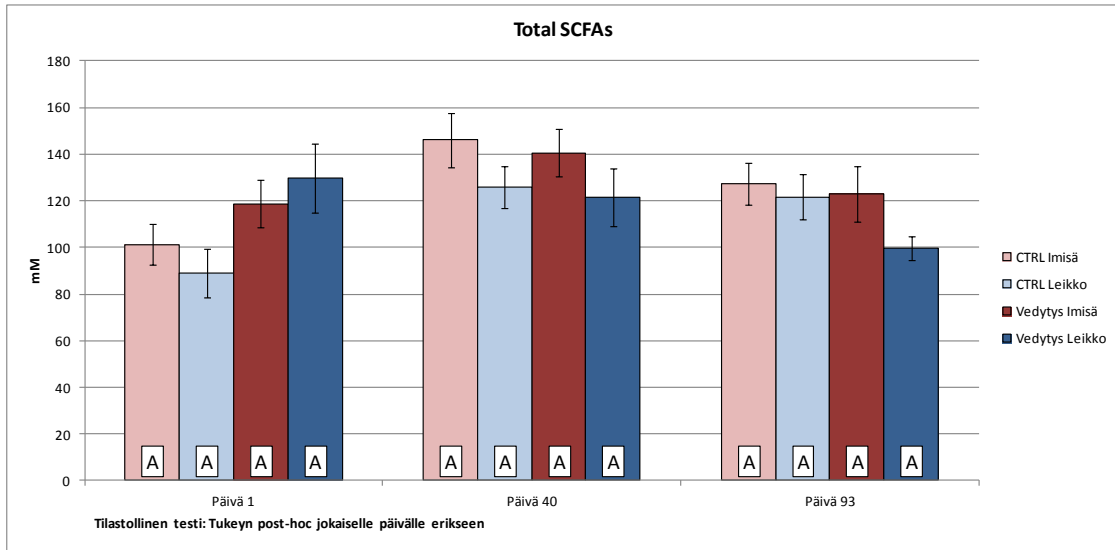
Vedytyksellä ei ollut vaikutusta kokonais-SCFA-konsentraatioon (kuva 11). Myöskään sukupuolella tai näytteenottopäivällä ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta.

Vedytyksellä ei havaittu olevan vaikutusta etikkahapon suhteelliseen osuuteen (%) kokonaisrasvahapoista. Kaikkia mittauspäiviä ANOVAn avulla tarkastellessa voidaan havaita, että leikoilla oli tilastollisesti merkitsevästi suurempi etikkahappoprosentti kuin imisillä (Liite 1).

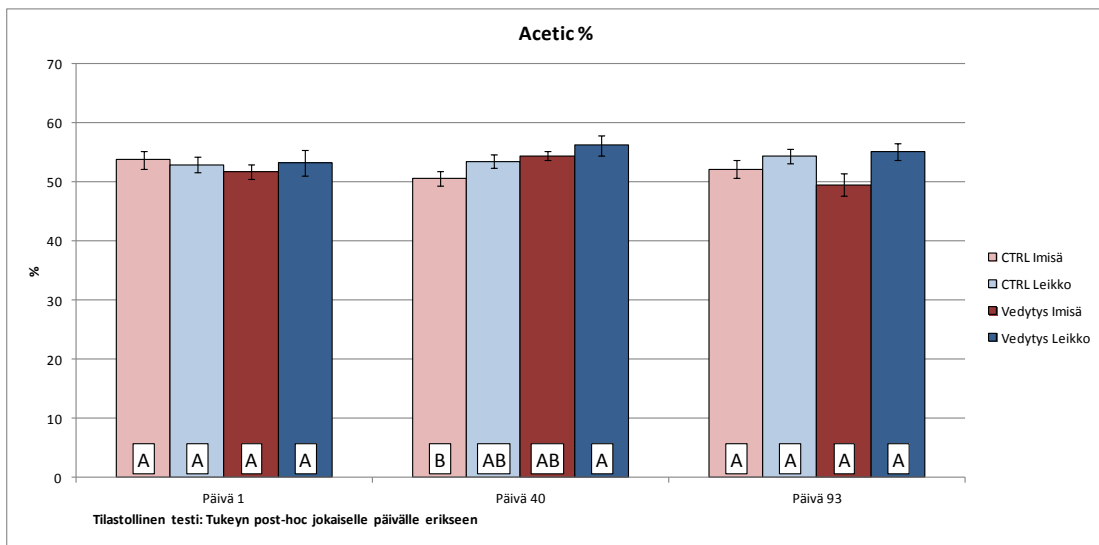
Propionihapon suhteellinen osuus (%) kokonaisrasvahapoista oli pienempi vedytysryhmällä kokeen aikana (Liite 1). Erityisesti kokeen lopussa leikoilla propionihappoa oli huomattavasti vähemmän vedytysryhmässä verrattuna kontrolliryhmään.

Butyraatin eli voihiapon suhteellinen osuus (%) oli leikoilla selkeästi pienempi ensimmäisen sonnan keruupäivän jälkeen (koepäivä 1). Viimeisenä keruupäivänä (koepäivä 93) vedytysrakennuksessa havaittiin korkeampi butyraattiprosentti verrattuna kontrollirakennukseen (kuva 14).

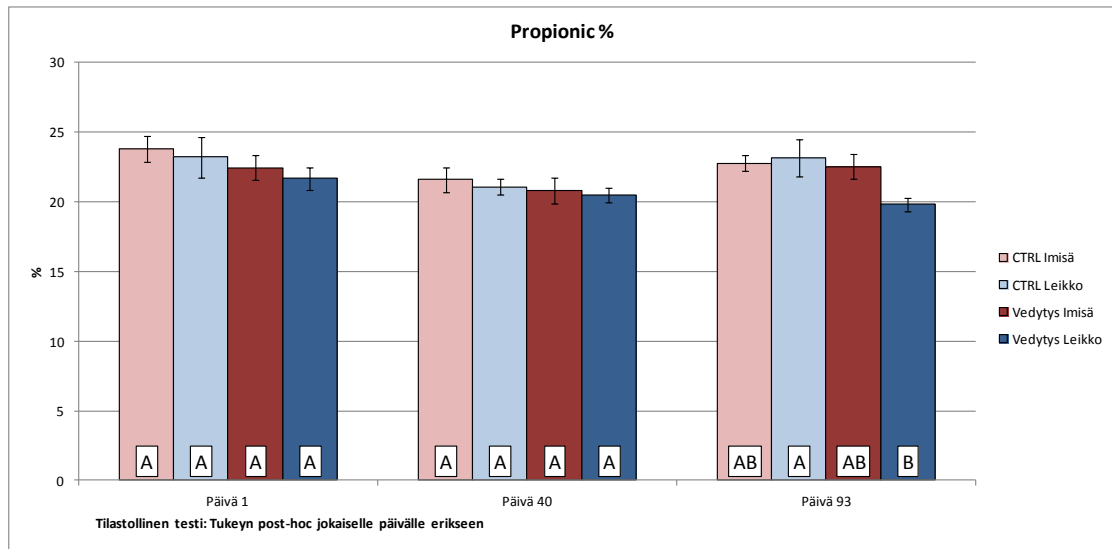
Haaroittuneissa rasvahapoissa ei havaittu selkeitä vaikutuksia. Toisen keruupäivän (koepäivä 40) kohdalla vedytysrakennuksessa oli pienempi haaroittuneiden rasvahappojen %-osuus verrattuna muihin keruupäiviin (kuva 15). Haaroittuneilla rasvahapoilla on havaittu olleen yhteyksiä lannan hajuhaittoihin (Miller & Varel, 2003). Tässä kokeessa haaroittuneiden rasvahappojen määrä ei kuitenkaan korreloinut sontanäytteiden ammoniakkipitoisuuden kanssa.



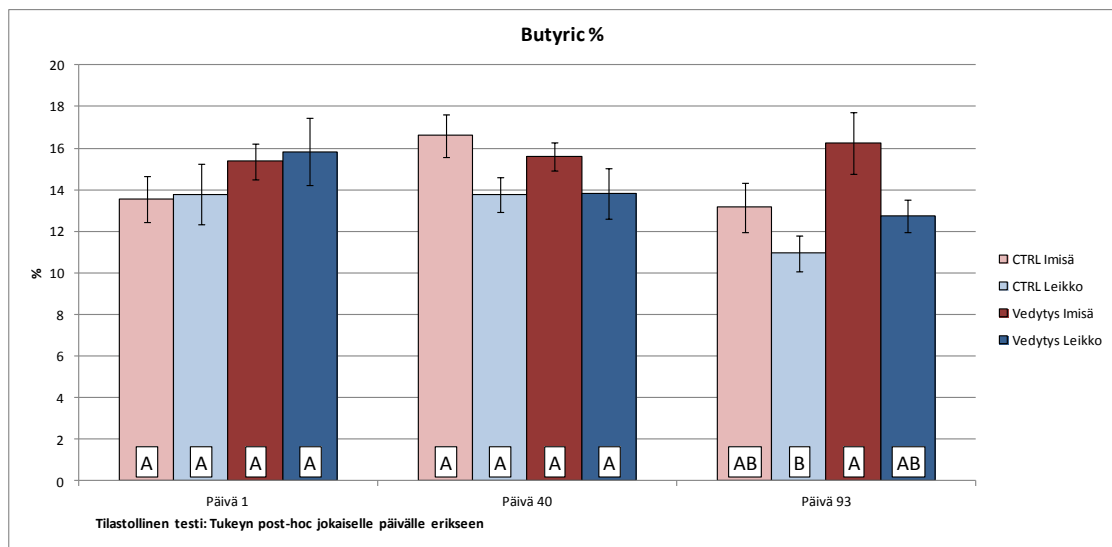
**Kuva 11.** Lyhytketjuiset rasvahapot yhteensä (mM). Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä.



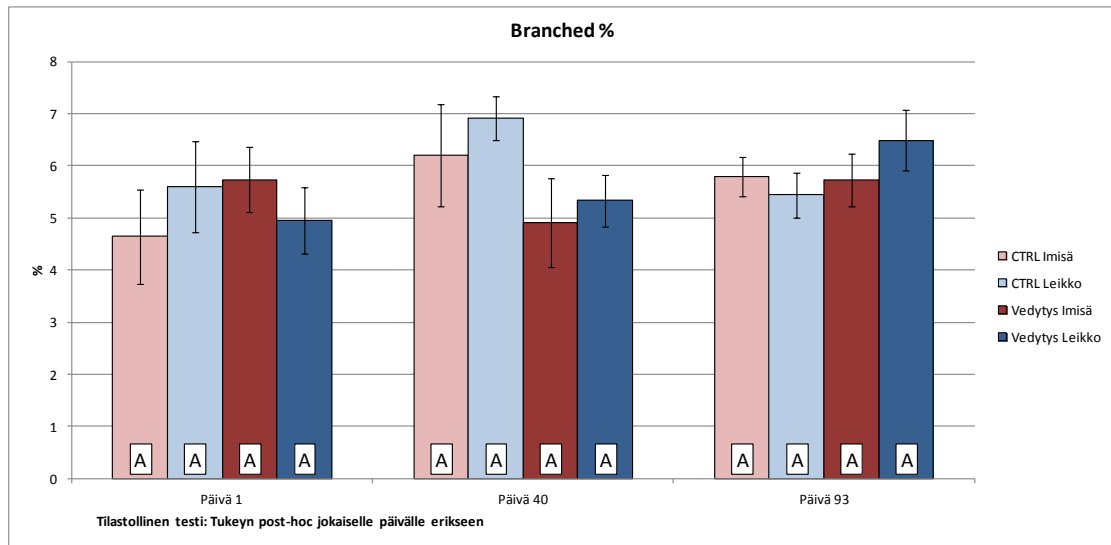
**Kuva 12.** Etikkahapon suhteellinen osuus (%) kokonaisrasvahapoista. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä.



**Kuva 13.** Propionihapon suhteellinen osuus (%) kokonaisrasvahapoista. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä.



**Kuva 14.** Butyraatin suhteellinen osuus (%) kokonaisrasvahapoista. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä.

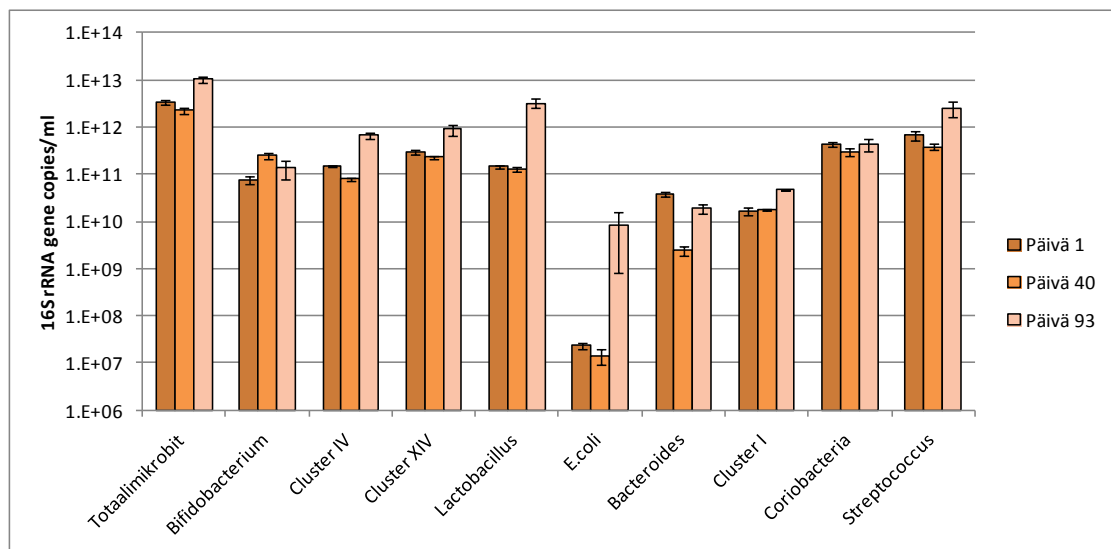


**Kuva 15.** Haaroittuneiden rasvahappojen suhteellinen osuus (%) kokonaisrasvahapoista. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä.

#### 4.4.3 qPCR-mikrobimääritykset

Terveillä eläimillä suoliston mikrobisto on hyvinkin stabiili ajan kuluessa mikä indikoi siitä, että tietyt mekanismit edistävät hyvien bakteerien elinvoimaisuutta. Mikäli mikrobiston tasapainoa häiritään, on sen todettu aiheuttavan monenlaisia terveysongelmia. Mikrobien määrä suolistossa onkin hyvä indikaattori mahdollisille häiriöille ja terveysongelmille.

Kokeessa havaittiin, että mikrobien määrä sontanäytteissä pysyi hyvin stabiilina kokeen aikana (kuva 16). Viimeisessä aikapisteessä voidaan havaita nousu mikrobimäärissä verrattuna aikaisempiin aikapisteisiin, mutta tämä tapahtuu lähes kaikilla mikrobiryhmillä. *E. coli* -tasot nousevat muita mikrobiryhmiä enemmän, mikä saattaa vihjata hygieniatason laskusta kohti kokeen loppua.



**Kuva 16.** Mikrobien määrä (16S rRNA geenikopiot) kaikissa sontanäytteissä keskiarvoisesti.

Korkea mikrobiitiheys paksusuolella kertoo siitä, että eläin ei ole pystynyt ohutsuolessa käyttämään kaikkia rehun komponenteista vaan ne päätyvät paksusuolen mikrobien ravinnoksi. Vaikka paksusuolen bakteerit konvertoivatkin rehun rasvahapoiksi joita eläin voi käyttää, on ravinteiden imeytyminen hyvin vähäistä verrattuna ohutsuolessa.

Mikrobien kokonaismäärä sontanäytteissä on esitetty kuvassa 17. Kontrolliryhmässä mikrobien määrä nousi viimeisessä aikapisteessä noin dekadilla. Vastaavasti vedytysryhmässä mikrobien määrä lisääntyi vain n. puolella dekadilla. Ryhmien välinen ero on ANOVAn tilastojen mukaan merkitsevä (Liite 1). Vedytysryhmän kokonaismikrobien määrään vähentyminen voi indikoida sitä, että paksusuolen bakteereilla on vähemmän ravintoa kuin kontrolliryhmällä. Tämä korreloi porsaiden kasvun kanssa, sillä vedytysryhmän eläimet ovat hyödyntäneet ravinnon paremmin ja näin paksusuolen mikrobistolle jää vähemmän energiaa.

Bifidobakteerit ovat sakkaryolyyttisiä bakteereja, joiden uskotaan olevan terveyttä edistäviä mikroorganismeja sekä ihmisissä että eläimissä. Probiootteja, jotka lisäävät bifidobakteerien



määrää suolessa on tutkittu paljon kirjallisuudessa etenkin nuorten porsaiden terveyden kannalta ja niillä on havaittu olevan positiivisia vaikutuksia (Abe, et al., 1995). Bifidobakteerien määrä sontanäytteissä vaihteli kokeen aikana vedytys/kontrollinäytteiden suhteen, joten kokonaiskuva vedytyksen vaikutuksesta jäi epäselväksi (kuva 18).

Klostridi klusteri XIVa yhdessä klusterin IV kanssa sisältävät bakteereja joiden tarkka identiteetti on huonosti tunnettu. Yhteistä näille bakteeriryhmille on butyraatin tuotto sekä positiivinen korrelaatio eläimen terveyden kanssa. Butyraatin tiedetään olevan tärkeä tekijä suolen terveyden ylläpitämisessä ja se on lisäksi epiteelisolujen suosima energian lähde. Kuten kuvasta 19 havaitaan, vertautuivat eri näytteiden Klostridi klusteri XIVa määrät totaalimikrobeihin. Viimeisessä aikapisteessä kontrolliryhmän mikrobitasot nousivat tilastollisesti merkitsevästi enemmän kuin vedytysryhmässä. Vahvaa korrelaatiota klusteri XIV -tulosten ja butyraattikonsentraation välille ei kuitenkaan muodostunut.

Klostridi klusteri IV on taksonomisesti kaukainen klusterista XIVa, mutta molempien tiedetään tuottavan butyraattia. Klusteriin IV kuuluu mm. *Faecalibacterium prausnitzii*- ja *Clostridium leptum* -lajit sekä *Ruminococcus*-suku. Butyraatin lisäksi osa tähän klusteriin kuuluvista mikrobeista tuottaa muurahaishappoa, jonka tiedetään inhihoivan tiettyjä suoliston patogeeneja. Lisäksi, *F. prausnitzii* on havaittu suojelevan tulehduksia vastaan sekä *in vivo* että *in vitro*. Kuvassa 20 on esitetty Klostridi klusteri IV bakteerien määrät sontanäytteissä. Mikrobitasot ovat aavistuksen pienemmät kuin klusterilla XIVa, mutta suhteet eri käsittelyjen välillä ovat samankaltaisia.

Laktobasillit ovat sakkarolyttisiä bakteereja kuten bifidobakteerit. Tyypillisesti ne laskevat suolen pH:ta ja siten niillä voi olla suojeleva rooli kolibakteereja tai salmonellaa vastaan. Niiden määrällä ei kuitenkaan tiedetä olevan vaikutusta rehuhyötysuhteeseen. Laktobasillien määrä tässä kokeessa (Kuva 21) oli yhteneväinen edellä mainittujen bakteeriryhmien vaikutusten kanssa.

*Bacteroides*-suvun lajit ovat ominaisuuksiltaan hyvinkin erilaisia. Osan suvun lajeista tiedetään tuottavan eläimelle haitallisia mädätysyhdisteitä. Lisäksi joidenkin *Bacteroides*-suvun jäsenten tiedetään olevan opportunistisia patogeeneja, jotka häiritsevät suolen seinämän toimintaa. Kokeessa *Bacteroides*-suvun bakteerien määrä oli pienin kokeen puolivälissä (Kuva 22). Lisäksi vedytyksellä havaittiin olevan inhihoiva vaikutus (Liite 1).

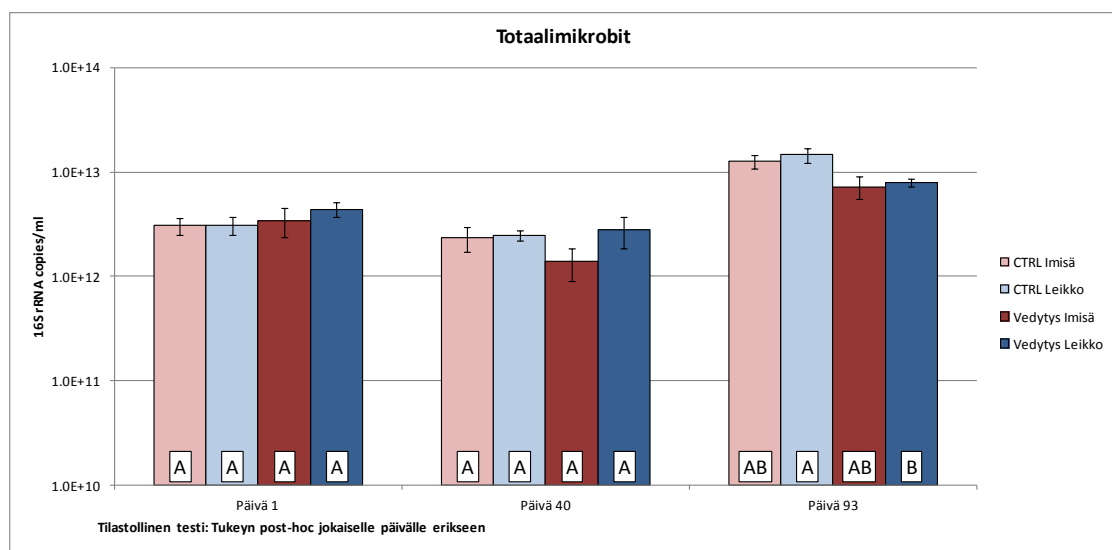
Kolibakteerit (*Escherichia coli*) kuuluvat kaikkien lämminveristen eläinten tavalliseen suolistobakteeristoon. Osa *E. coli* -kannoista on kuitenkin virulentteja, jotka saattavat aiheuttaa terveysongelmia eläimelle. Olosuhteet, joissa harmittomat kolibakteerikannat menestyvät eivät juurikaan poikkea oloista, joissa myös virulentit kannat viihtyvät. Tämän takia kolibakteerien kokonaismäärää voikin käyttää riski-indikaattorina. Kokeessa havaittiin, että kolibakteerien määrä oli huomattavasti suurempi kokeen lopussa (Kuva 23, Liite 1). Kontrolliryhmässä tasot nousivat yli kahdella dekadilla, kun taas vedytyksellä kolibakteerien määrä lisääntyi vain n. dekadilla.

Klostridi klusteriin I kuuluvat yleisesti haitallisiksi määritellyt klostridit. Kokeessa havaittiin, ettei eläimen sukupuoli tai vedytys vaikuttanut klusterin I tasoihin. Kokeen lopussa niiden määrä oli kuitenkin korkeammalla kuin aikaisemmissa mittauspisteissä (Kuva 24, Liite 1). Totaalimikrobeilla havaittua vedytyksen vaikutusta ei kuitenkaan esiintynyt klusterin I mikrobeilla, mikä tarkoittaa sitä, että niiden suhteellinen osuus kokonaismikrobistosta nousi

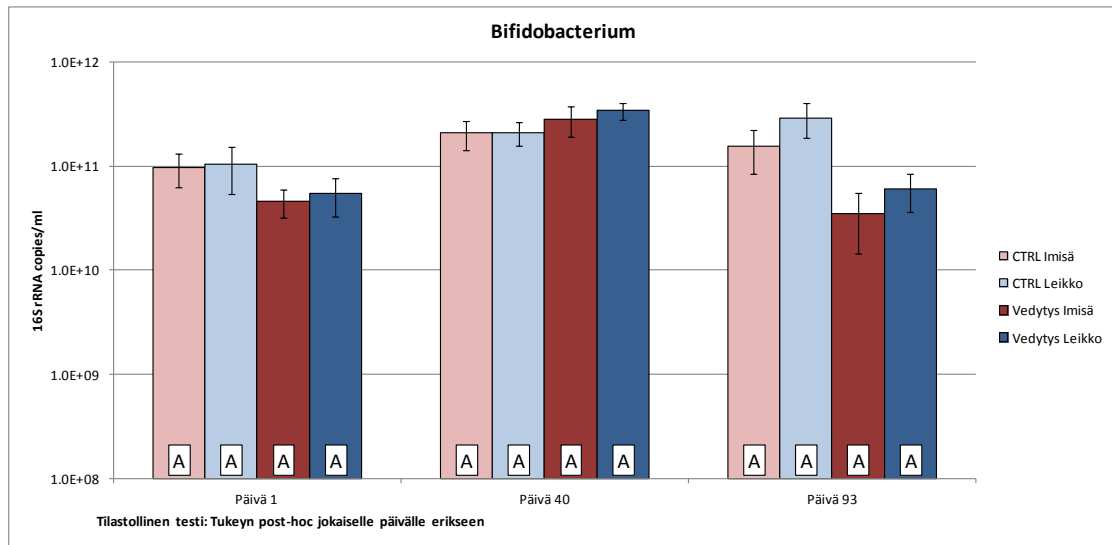
vedytysryhmällä. Negatiivisia vaikutuksia ei kuitenkaan havaittua porsaan kasvussa tai muissa parametreissa.

*Coriobacteriaceae*-heimon mikrobit kuuluvat *Actinobacteria* fyylaan, johon tiedetään kuuluvan ehdottoman anaerobisia Gram-positiivisiä mikrobeita. *Eggerthella lenta* ja *Collinsella aerofaciens* ovat tunnetuimmat tämän ryhmän edustajat etenkin nisäkkäillä. *Coriobacteriaceae*-heimon mikrobin terveysvaikutuksia ei ole laajamittaisesti tutkittu, mutta joitakin viitteitä positiivisista indikaatioista on olemassa. Vedytyksellä havaittiin olevan laskeva vaikutus *Coriobacteriaceae*-heimon mikrobin määrään (Kuva 25, Liite 1). Ero on samaa suuruusluokkaa kokonaismikrobien määrän muutoksen suhteen, joten *Coriobacteriaceae*-heimon mikrobin suhteellinen osuus kokonaismikrobeista sontanäytteissä ei muuttunut kokeen aikana.

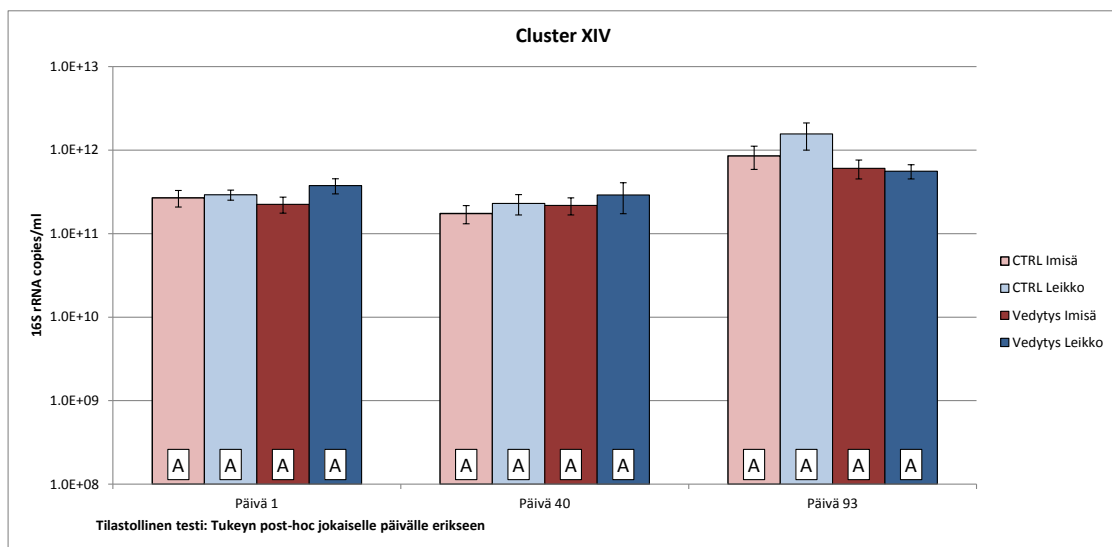
Streptokokit ovat laktobasillien tavoin Gram-positiivisiä maitohapon tuottajia. Ne ovat usein dominoivia bakteereja ylemmässä ruoansulatuskanavassa, mutta niitä esiintyy joissain tapauksissa suuria määriä myös alemmassa ruoansulatuskanavassa. Yleisesti maitohappobakteerien kohonnut määrä paksusuolella voi olla seurausta ravinnon heikentyneestä imeytymisestä ohutsuolessa. Tässä kokeessa streptokokkien määrä väheni vedytyksäsittelyryhmässä verrattuna kontrolliryhmään viimeisessä mittauspisteessä (Kuva 26). Tämä tulos on linjassa sikojen paremman kasvun kanssa ja voi hyvin mahdollisesti olla indikaattori ravinnon tehostuneesta imeytymisestä ohutsuolessa.



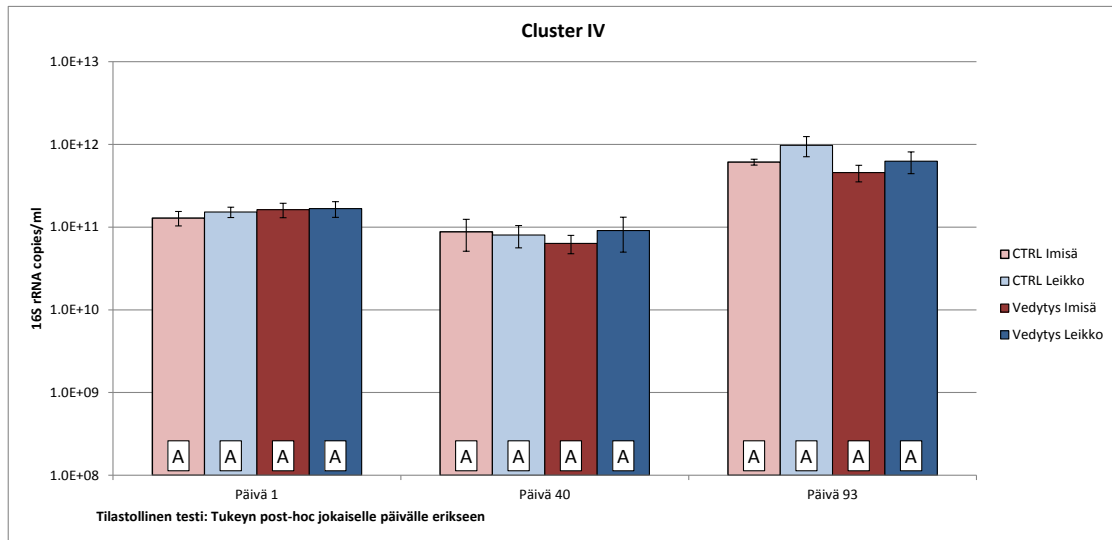
**Kuva 17.** Kokonaismikrobien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



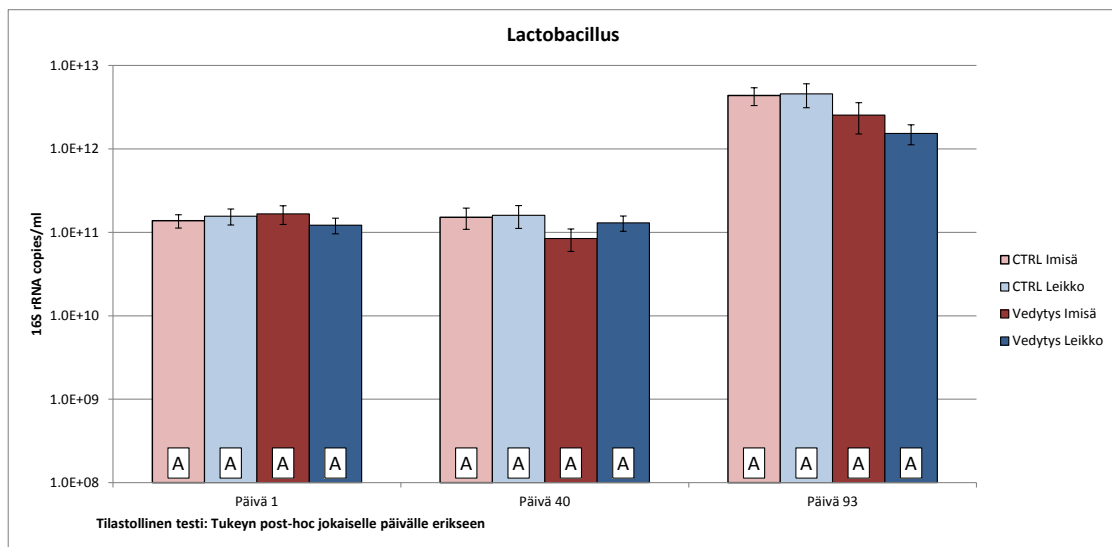
**Kuva 18.** Bifidobakteerien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



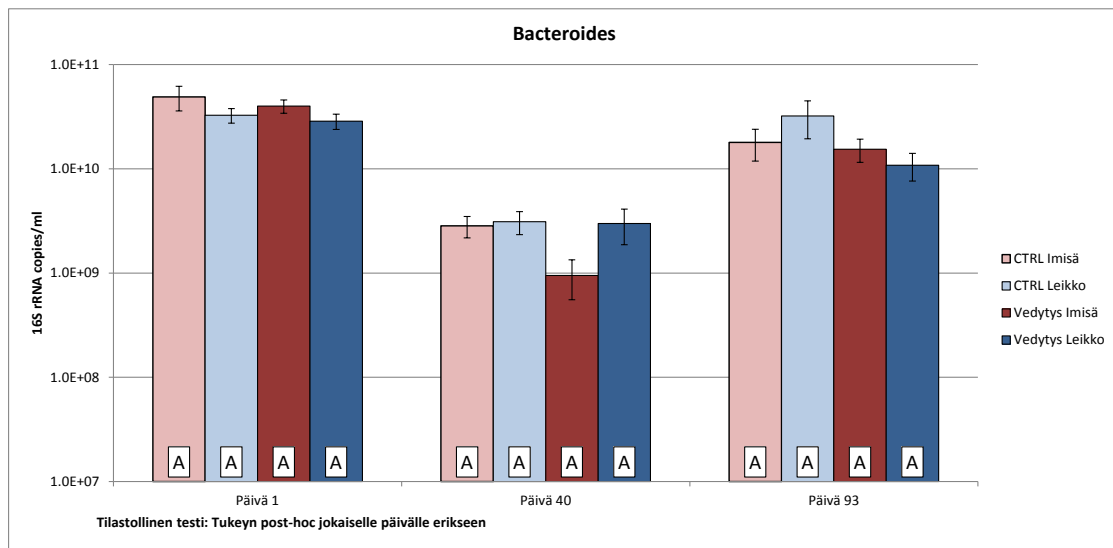
**Kuva 19.** Klostridi klusteriin XIVa kuuluvien mikrobien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



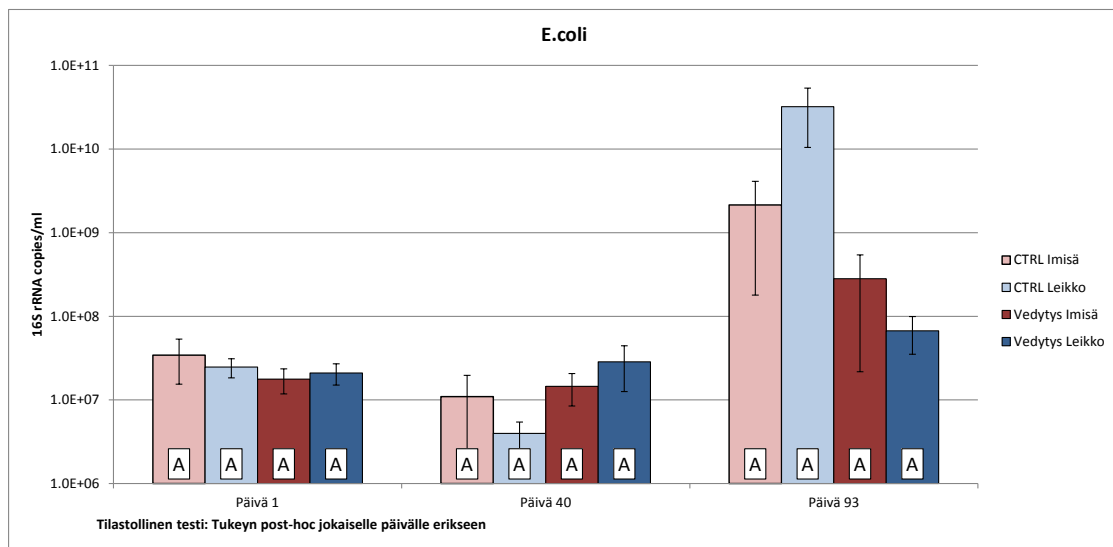
**Kuva 20.** Klostridi klusteriin IV kuuluvien mikrobien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



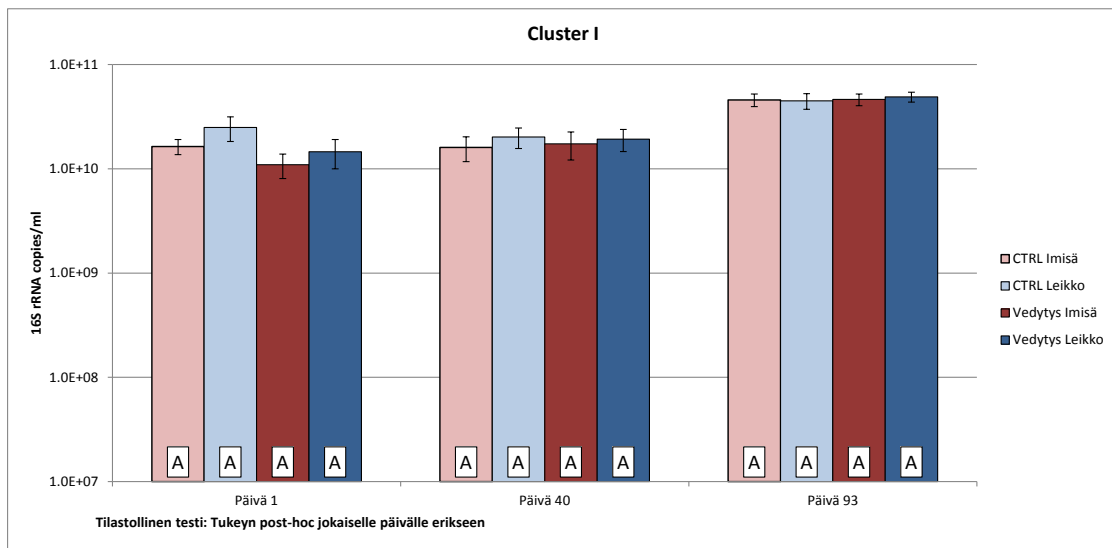
**Kuva 21.** Laktobasillien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



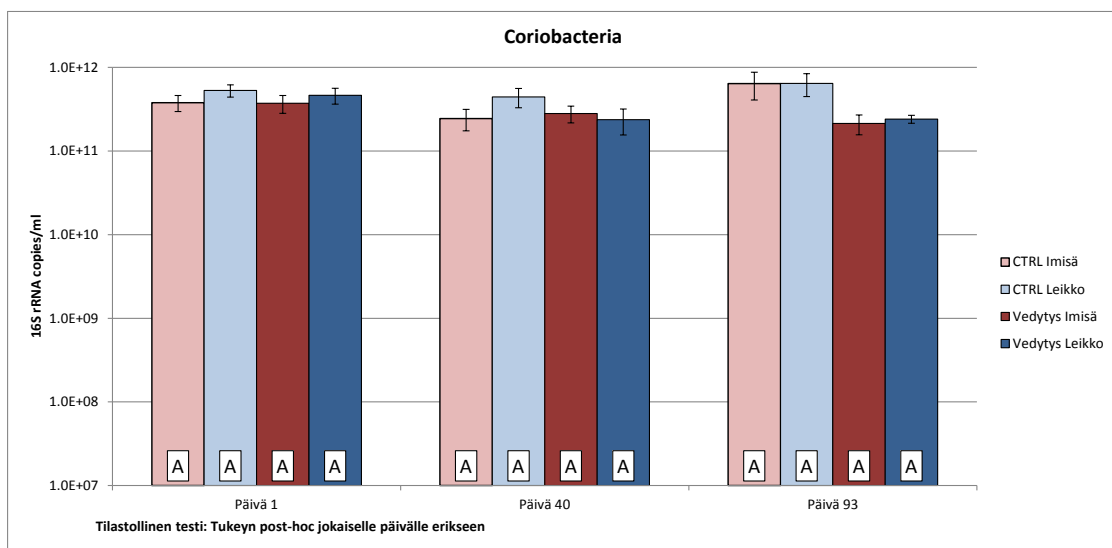
**Kuva 22.** *Bacteroides*-sukuun kuuluvien mikrobien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



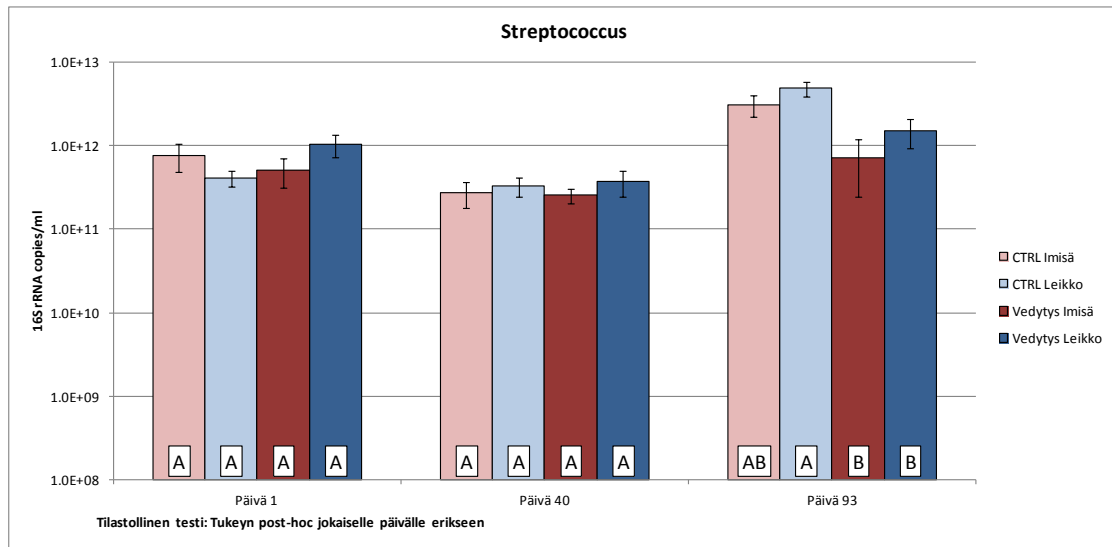
**Kuva 23.** Kolibakteerien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



**Kuva 24.** Klostridi klusteriin I kuuluvien mikrobien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



**Kuva 25.** *Coriobacteriaceae*-heimoon kuuluvien mikrobien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.



**Kuva 26.** Streptococcus-sukuun kuuluvien mikrobien määrä sontanäytteissä. Ryhmittely CTRL/Vedytys ja imisä/leikko. Tilastollinen vertailu Tukeyn post-hoc testillä. HUOM logaritminen asteikko.

## 5. Johtopäätökset

Ammoniakin määrä sontanäytteissä ei muuttunut vedytyksen vaikutuksesta. Mahdollinen pieni muutos ammoniakin konsentraatiossa on kuitenkin mahdollisesti voinut jäädä muista tekijöistä aiheutuvan hajonnan alle. Yksi tekijä, mitä tässä kokeessa ei pystytty mittaamaan oli ammoniakin määrä virtsassa. Jopa 80% ammoniakista poistuu juuri virtsan mukana (Leek, et al., 2005), joten virtsa-analyysit olisivat suositeltava lisämittausparametreihin. Hypoteesin mukaista vedytyslaitteiston positiivista vaikutusta ympäristöpäästöihin ei näin ollen pystytty osoittamaan.

Vedytys vaikutti positiivisesti sikojen päiväkasvuun; koko kokeen aikana painoa kertyi 130 grammaa päivässä enemmän kuin kontrolliryhmällä. Kokeessa mukana olleilla sioilla teuraspaino oli vedytysrakennuksessa 10 kg suurempi kuin kontrollirakennuksessa (N = 45). Muilla vedytysrakennuksen sioilla teuraspaino oli 5 kg enemmän verrattuna kontrollirakennuksen kokeen ulkopuolisiin sikoihin (N = 563). Samalla ruhon lihaprosentti kuitenkin laski. Lisäksi kuolleisuus vedytysryhmän koesioilla oli suurempaa kuin kontrolliryhmällä tai kokeen ulkopuolisilla sioilla.

Taloudellinen hyöty vedytyksestä on hankala laskea edellä mainittujen seikkojen takia. Vaikka lihaa saatiinkin suhteessa enemmän kuin kontrolliryhmällä, puolet saavutetusta hyödystä häviää alhaisemman lihaprosentin takia. Mikäli otetaan lisäksi kuolleisuus huomioon, ei ruhojen arvo ollut tilastollisesti merkitsevästi erilainen vedytysryhmän ja kontrolliryhmän välillä. Syötyä rehun määrää ei pystytty mittaamaan kokeen aikana, joten vaikutusta rehuhyötysuhteeseen ei voida arvioida.

*In vitro* -kokeessa, jossa kolibakteeria spaikattiin porsaiden juomaveteen, ei vedytyksellä havaittu olevan vaikutusta kolibakteerin määriin. Laitteen toimintaperiaate ei siis todennäköisesti perustu bakteerien määrän vähentymiseen.

Kokonaisuutena laitteella havaittiin olevan joitakin vaikutuksia porsaan kasvuun ja suoliston mikrobistoon (esim. streptokokkien määrän vähentyminen), mutta täsmällisiä todisteita sen toimivuudesta ei voida kuitenkaan tämän tutkimuksen tulosten perusteella todeta. Laitteen toimintaa pitäisi päästä kokeilemaan vertailuryhmillä, jotka ovat samassa rakennuksessa. Tällöin mahdolliset muut mittaustuloksiin vaikuttavat tekijät saataisiin minimoitua. Nuoret porsaat olisivat kohderyhmänä otollisin, sillä niillä mahdolliset erot olisivat selkeämmin havaittavissa.



## 6. Lähteet

**Abe, F., Ishibashi, N. & Shimamura, S.,** 1995. Effect of Administration of Bifidobacteria and Lactic Acid Bacteria to Newborn Calves and Piglets. *Journal of Dairy Science*, 78(12), pp. 2838-2846.

**Leek, A., Callan, J., Henry, R. & O'Doherty, J.,** 2005. The application of low crude protein wheat-soyabean diets to growing and finishing pigs. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, Volume 44, pp. 247-260.

**Miller, D. N. & Varel, V. H.,** 2003. Swine manure composition affects the biochemical origins, composition, and accumulation of odorous compounds. *Journal of Animal Science*, 81(9), pp. 2131-2138.

**Thomas, H. A.,** 1942. Bacterial densities from fermentation tube tests. *J. Am. Water Works Assoc*, Volume 34, pp. 572-576.

**LIITE 1.****- ANOVA taulukko**

|                         | <i>Vedytys</i> | <i>Sp</i> | <i>Päivä</i> |
|-------------------------|----------------|-----------|--------------|
| Ammoniakki              | 0.836          | 0.3263    | 0.1571       |
| Totaali SCFA            | 0.766          | 0.1529    | 0.3137       |
| Acetic-%                | 0.2075         | 0.0234    | 0.6666       |
| Propionic-%             | 0.0091         | 0.1881    | 0.8578       |
| Butyric-%               | 0.1334         | 0.0424    | 0.0136       |
| Branched-%              | 0.6895         | 0.4874    | 0.1745       |
| Acetic:propionic -suhde | 0.0142         | 0.0168    | 0.7146       |
| Totaali mikrobit        | < 0.0001       | 0.3995    | < 0.0001     |
| Bifidobacterium spp.    | 0.7442         | 0.2129    | 0.152        |
| Clostridial Cluster IV  | 0.0077         | 0.2311    | < 0.0001     |
| Clostridial Cluster XIV | 0.0099         | 0.2737    | < 0.0001     |
| Lactobacillus spp.      | 0.0003         | 0.608     | < 0.0001     |
| Echerichia coli         | 0.0523         | 0.2159    | 0.0127       |
| Bacteroides spp.        | 0.0061         | 0.4507    | 0.1198       |
| Clostridial Cluster I   | 0.4832         | 0.3521    | <0.0001      |
| Coriobacteriaceae       | 0.0008         | 0.3544    | 0.093        |
| Streptococcus spp.      | < 0.0001       | 0.1466    | < 0.0001     |

ANOVA p-arvo kun päivänä 1 vedytyksen ei vielä oleteta vaikuttavan tuloksiin. Vedytys ja sukupuoli kategorisia muuttujia, päivä jatkuva muuttuja