

Eesti Maaülikool  
Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut



# TERVE LOOM JA TERVISLIK TOIT

Konverentsi

**Terve loom ja tervislik toit 2023**

artiklite kogumik

Kogumiku peatoimetaja: Andres Aland

Kogumikus avaldatud artiklid on retsenseeritud ja korraldajate poolt toimetatud.  
Konverentsi „Terve loom ja tervislik toit 2023“ korraldustoimkond: Riho Gross, Ülle Jaakma, Piret Kalmus, Marko Kass, Liis Käosaar (Publicon OÜ), Katrin Laikoja, Ragnar Leming, Meelis Ots.

Kaanekujundus ja küljendus: Eva Peedimaa

Kaanefoto: Shutterstock

© Eesti Maaülikool

ISBN 2674-5011

## Head kolleegid

Mul on hea meel tervitada teid kolmeteistkümnendat korda toimuval konverentsil “Terve loom ja tervislik toit”. Meie konverents räägib loomadest, nende käitumisest, tervisest, haigustest ja ravist. Üha rohkem tehakse juttu toidujulgeolekust ning nullsaastest.

Koroonapandeemia ja sõda Ukrainas on näidanud, kui haprad võivad olla rahvusvahelised tarneahelad, mistõttu ei saa toidu tootmisel loota vaid teistele riikidele. Tänu sellele on kohalik põllumajandus ja toidutootmine tõstetud fookusesse kui igapäevase toidujulgeoleku kindlustaja. Konverentsil keskendutakse toidu raiskamise vähendamisele ning taimsete toitute (nt kaerajookide) pakkumise suurendamisele. Mitmed ettekanded räägivad tööstuse kõrvalsaaduste (nt mahlapressjääkide) väärindamisest.

Sel aastal võime tõdeda, et Tartus on antud veterinaariaalast haridust juba 175 aastat. Aegade jooksul on põhirõhk kandunud hobustelt produktiivkarjakasvatusele ning nüüd, mil kaugsuhtlus on saamas üha tavalisemaks, muutuvad ka lemmikloomad inimesele üha olulisemaks asendades sõpru ja sugulasi. Tänapäeva veterinaaria kätkeb endas mitte ainult loomade tervist ja heaolu, vaid mõjutab ka inimeste ning ökosüsteemide tervist ja heaolu. Ka meie konverentsil räägitakse loomade täppispidamisest, söötmise optimeerimisest ning söödalisandite mõjust söömusele ja loomade tervisele, nutika tehnoloogia rakendamisest loomade tervise ja heaolu parandamiseks.

Edukat konverentsi soovides

**Toomas Tiirats**

*Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi direktor*

## Sisukord

- 3 Head kolleegid**
- 6 Konverentsi päevakava**
- 8 TERVISLIK TOIT Esitatud suuliste ettekannetena**
- 9 Üleminekupiima koostis, kvaliteet ja väärindamisvõimalused**  
*Ivi Jõudu, Andres Sats, Tõnis Jairus*
- 18 Ülevaade RESTA14 projekti TAIMLOOMTOIT tulemustest – liha- ja kalatoodetele lisandväärtuse andmine aiandustootmises tekkivate mahlapressjääkidega**  
*Reelika Rätsep, Mati Roasto, Dea Anton, Kadrin Meremäe, Marek Tepper, Hedi Kaldmäe, Uko Bleive, Kristi Kerner, Alar Sünter, Alar Aluvee, Linda Rusalepp, Julia Koskar, Viive Sarv, Petras Rimantas Venskutonis, Tõnu Püssa*
- 25 Pihlakamarjade pressjäägi kasutamine sealihast lihapallides**  
*Kristi Kerner, Viive Sarv, Alo Tänavots, Petras Rimantas Venskutonis*
- 34 Toores lihas toimuvate protsesside jaotus perioodideks energiarikaste nukleotiidide (ATP) laguproduktide sisalduste muutumise alusel**  
*Alar Sünter, Artur Kuznetsov, Tõnu Püssa*
- 40 Taimedes sisalduvate mürgiste ainete ülekanne loomsetesse toiduainetesse**  
*Tõnu Püssa*
- 49 BIOCOAT – juustu säileaaja pikendamine**  
*Liis Lutter, Epp Songisepp, Agne Vasiliauskaite, Elvidas Aleksandrovas, Justina Mileriene, Ida Rud, Lars Axelsson, Sandra Muizniece-Brasava, Inga Ciprovica, Mindaugas Malakauskas, Loreta Serniene*
- 55 Listeria monocytogenes'e kasvu pidurdamise võimalused taimsete lisanditega hakklihatoodes**  
*Mati Roasto, Kadrin Meremäe, Julia Koskar, Terje Elias, Reelika Rätsep*
- 65 Patogeenidega saastumise algpõhjuste analüüs**  
*Mihkel Mäesaar, Mati Roasto*
- 68 Biotehnoloogilised meetodid FODMAP-ide sisalduse vähendamiseks tera- ja kaunviljades**  
*Liis Lutter, Helena Andreson, Ivi Jõudu*
- 85 TERVISLIK TOIT Esitatud virtuaalsete stendiettekanntenena**
- 86 Taimsete lisandite mõju verivorstide säilivusele ja kvaliteedile**  
*Kadrin Meremäe, Mati Roasto, Dea Anton, Marek Tepper, Terje Elias, Kristi Kerner, Reelika Rätsep, Tõnu Püssa*
- 96 Valmistoidu nakatamiskatsed L. monocytogenes'ga**  
*Mati Roasto, Kadrin Meremäe, Julia Koskar, Terje Elias, Reelika Rätsep*
- 98 TERVE LOOM Esitatud suuliste ettekannetena**
- 99 Somaatiliste rakkude eristamine – uus võimalus Eesti piimakarjakasvatajatele**  
*Kaivo Ilves, Kalle Pedastsaar, Tanel Kaart, Haldja Viinalass*
- 101 Süsteemne põletik vastündinud mäletsejalistel – põhjused ja tagajärjed**  
*Marina Loch, Elisabeth Dorbek-Kolin, Kristel Peetsalu, Tarmo Niine, Toomas Orro*
- 111 Palaviku tuvastamine piimaveiste vasikatel tehis-närvivõrkude ja nahaaluse mikrokiibiga**  
*Tarmo Niine, Els Rusi, Ants Kavak, Rait Rand ja Hardi Tamm*
- 120 Kärbsevablade söötmise mõju kesikute juurdekasvule**  
*Varpo Vare, Rünno Patune, Ragnar Leming*
- 125 Söödalisandite mõju piimalehma söömusele, ainevahetusele ja toodangule üleminekuperioodil**  
*Priit Karis, Anne Alliku, Anette Matto, Katri Ling*
- 134 TERVE LOOM Esitatud virtuaalsete stendiettekanntenena**
- 135 Sigade Aafrika katku viiruse geneetiline varieeruvus Eestis**  
*Annika Vilem, Imbi Nurmoja, Lea Tummeleht ja Arvo Viltrop*
- 140 Taimsete jäätmete säästev kasutamine loomasööda tootmiseks**  
*Dunja Malenica, Marko Kass, Rajeev Bhat*
- 144 Piimaveiste võimalikud heaoluprobleemid aastaringsetes karjatamissüsteemides**  
*Eveli Somelar, David Arney, Joaquim Fernando Moreira Da Silva*
- 150 Astelpajulehed hobuse söödalisandina**  
*Kerttu Keir, Marko Kass*
- 154 Piimarasva rasvhappeline profiil – abivahend lüpsilehmade söötmise optimeerimisel**  
*Merike Henno, Meelis Ots, Kaivo Ilves, Aire Pentjärv*
- 156 Milk Extracellular Vesicles as a potential tool for early-stage detection of Insulin Resistance in dairy cows**  
*Madhusa Prasadani, Hanno Jaakson, Vallo Volke, Aneta Andronowska, Suranga Kodithuwakku, Alireza Fazeli*
- 158 LivestockSense – Täppispidamise kasutamine Eesti seakasvatusektoris: suhtumine ja rakendamist takistavad tegurid**  
*Alo Tänavots, Andres Aland, Eugen Kokin*
- 171 Eesti suurtes piimakarjades peetavate lehmade karjast väljamineku ja eluea pikkusega seotud tegurid ja tegurirühmad**  
*Kerli Mõtus, Dagni-Alice Viidu, Triin Rilanto, Tarmo Niine, Toomas Orro, Arvo Viltrop, Stephanie Bougeard*

## Konverentsi päevakava

### Tervislik toit

#### KOLMAPÄEV 1. MÄRTS

##### kõnejuht: Ivi Jõudu

09.00-10.00 Registreerimine, tervituskohv

10.00-10.10 Avasõnad, tervitus Eesti Maaülikooli rektorilt

10.10-10.40 *Waste2Taste*: tööstuse kõrvalsaaduste väärtustav taaskasutus kõrgema lisandväärtusega toodeteks - **Petras Rimantas Venskutonis** (Kaunase Tehnikaülikool, Leedu)

10.40-11.25 EMÜ toiduhügieeni ja –ohutuse valdkonna teadustöö ning koostöövõimalused ettevõtetega - **Mati Roasto** (EMÜ)

11.25-12.00 Piimatootmise kõrvalsaaduste väärdamisest - **Ivi Jõudu** (EMÜ)

12.00-13.00 *LÕUNA*

##### kõnejuht: Katrin Laikoja

13.00-13.20 Aiandustootmises tekkivate mahlapressjääkide kasutamine liha- ja kalatoodete väärdamisel - **Reelika Rätsep** (EMÜ)

13.20-13.40 Pihlaka pressjäagi kasutamine lihapallides - **Viive Sarv** (EMÜ)

13.40-14.00 Toore liha säilitamisel tekkivate protsesside hindamine - **Alar Sünter** (EMÜ)

14.00-14.20 Uuenduslikud kaerajoogi tehnoloogiad ja nende panus tervislike toiduainete tootmisesse - **Monica Nabil Gayed Ibrahim** (EMÜ)

14.20-14.40 Patogeenidega saastumise algpõhjuste analüüs - **Mihkel Mäesaar** (EMÜ)

14.40-15.10 *KOHVIPAUS*

15.10-15.40 Taimedes sisalduvate mürkainete kandumine inimeseni loomsete toitide kaudu - **Tõnu Püssa** (EMÜ)

15.40-16.10 BIOCOAT – juustu säileaja pikendamine – **Liis Lutter** (BioCC OÜ)

16.10-16.40 Liivimaa Lihaveise koostöökogemustest Eesti Maaülikooli teadlastega innovatsiooniklastri projektides – **Airi Külvet** (Liivimaa Lihaveis MTÜ)

PÄEVA LÕPETAMINE

### Terve loom

#### NELJAPÄEV 2. MÄRTS

##### kõnejuht: Priit Päkk

09.30-10.00 Registreerimine, tervituskohv

10.00-10.30 Somaatiliste rakkude eristamine – uus võimalus Eesti piimakarjakasvatajatele - **Kaivo Ilves** (EMÜ)

10.30-11.00 Üldine põletikuvastus vastsündinud mäletsejatel – kohanemine emakavälise keskkonnaga? - **Marina Loch** (EMÜ)

11.00-11.30 Erinevate söödalisandite mõju piimalehma söömusele, toodangule ja ainevahetusele üleminekuperioodil - **Priit Karis** (EMÜ)

11.30-12.00 Ameerika haudmemädaniku esinemine Eesti mesilaste tarulangetises - **Sigmar Naudi** (EMÜ)

12.00-13.00 *LÕUNA Stendiettekannete tutvustus*

##### kõnejuht: Ragnar Leming

13.00-13.10 Parimate postrite üleandmine

13.10-13.30 Nutika tehnoloogia kasutamine loomade heaolu parandamiseks - **Clive Phillips** (Curtin University, Austraalia)

13.30-13.50 Lisandväärtuse andmine kohalike tõugude piimale - **Liis Lutter** (BioCC OÜ)

13.50-14.10 Kärbsevklade söötmise mõju kesikute juurdekasvule - **Varpo Vare** (EMÜ)

14.30-15.00 *KOHVIPAUS*

15.00-15.20 Nahaaluse temperatuuri mõõtva mikrokiibist - **Tarmo Niine** (EMÜ)

15.20-15.40 Astelpaju kõrvalsaadused söödalisandina loomakasvatases - **Marko Kass** (EMÜ)

15.40 PÄEVA LÕPETAMINE

## TERVISLIK TOIT

Esitatud suuliste ettekannetena

## Üleminekupiima koostis, kvaliteet ja väärimisvõimalused

Ivi Jõudu<sup>1,2\*</sup>, Andres Sats<sup>1</sup>, Tõnis Jairus<sup>3</sup>

<sup>1</sup>EMÜ VLI, toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool

<sup>2</sup>EMÜ, Toidu- ja kõrvalsaaduste väärimise tehnoloogia ERA-õppetool, VALORTECH

<sup>3</sup>Anu Ait OÜ

\*[ivi.joudu@emu.ee](mailto:ivi.joudu@emu.ee)

### Sissejuhatus

Vastsündinud loomade tervis sõltub väga suurel määral pärast sündi ternespiimaga saadavate antikehade olemasolust ja kvaliteedist. Järglase hea tervis on aga peamiseks tagatiseks, et loom ka täiskasvanueas vajaks minimaalselt ravi, sh väheneks antibiootikumide jt ravimite kasutamise vajadus loomadel ning mikroobide resistentsus antibiootikumide suhtes (vastavalt Euroopa roheleppel), mis omakorda aitab kaasa ohutu ja tervisliku toidu tootmisele vähendades antibiootikumide vajadust.

Farmerite praktilised kogemused näitavad, et kõikide lehmade ternespiim ei ole piisava kvaliteediga, et tagada järglastele piisavas koguses antikehi. Lehmade poegimisjärgse 2.–5. lüpsi piim, nn üleminekupiim, mis ühelt poolt sisaldab küll märkimisväärselt vähem antikehasid kui ternespiim, aga teisalt on täiesti kasutamata ressurss, mida tekib lautades märkimisväärses koguses, annab võimaluse seda kasutada ternespiima kvaliteedi parandamiseks. Koostöös Anu Ait OÜ läbiviidava projekti (PRIA projekt viitenumbri 616221790120) eesmärgiks on töötada üleminekupiimast välja ternespiima Ig lisand. Käesoleva artikli eesmärgiks on anda ülevaade selle projekti esimeste etappide tulemustest, mille käigus hinnati lehmade poegimisjärgse 2.–5. lüpsi piima koostist ja kvaliteeti ning töötati välja üleminekupiima Ig sisalduse kontsentreerimise meetodika.

### Uurimistöö meetodika

Üleminekupiima koostise ja kvaliteedi hindamiseks koguti poegimisjärgse 2.–5. lüpsi piimaproovid kolmest laudast kokku 48 lehmalt. Piimaproovid koguti samaaegselt preparaadi valmistamise tehnoloogia väljatöötamiseks (a' 1–3 L) ja koostise määramiseks (a' 50 mL). Piimaproovid koguti igalt loomalt



tema 2., 3., 4. ja 5. poegimisjärgsest lüpsist; saades kokku 178 piimaproovi (Tabel 1). Proovid külmutati laudas ning transporditi laborisse, kus neid hoiti sügavkülmutatult kuni analüüsimiseni. Laudas registreeriti lüpsiajad ning piima Brix näitaja, mis näitab lahustunud osakeste hulka ning kasutatakse ternespiima kvaliteedi, eeskätt immunoglobuliinide sisalduse, hindamiseks.

**Tabel 1.** Kogutud proovide jaotus lüpside ja lautade lõikes.

Laut \ Lüps	1	2	3	4	5	Kokku
Laut 1		16	16	16	16	64
Laut 2		12	12	12	12	48
Laut 3	2	17	17	16	14	66
Kokku	2	45	45	44	42	178

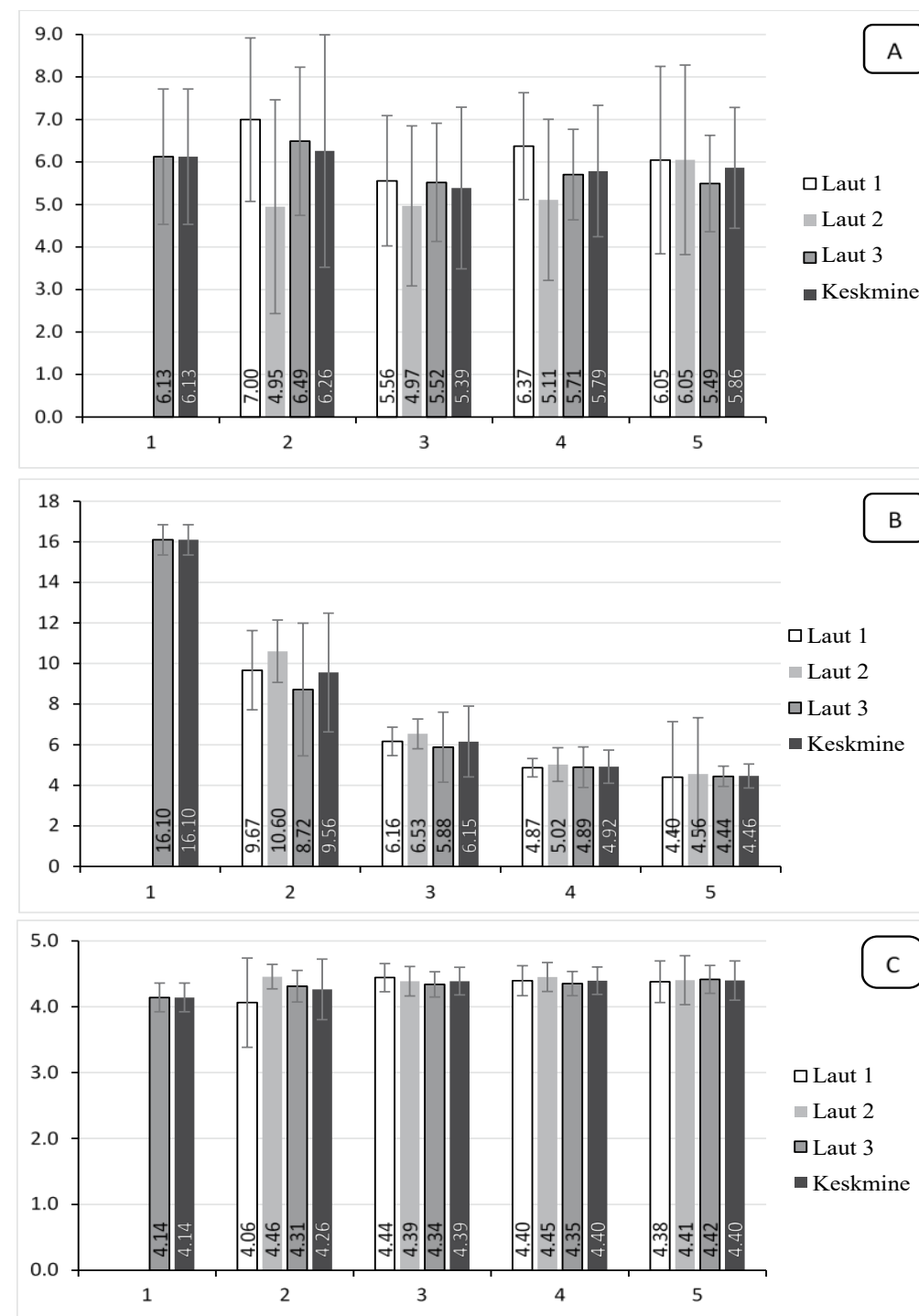
Piima peamised koostisnäitajad määrati lähiinfrapuna ehk NIR-analüsaatoriga, mis on varustatud LSM mooduliga (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Germany). Enne spektrite mõõtmist pumbati proovid läbi LSM mooduli homogenisaatori. Spektrite analüüsimiseks ja koostisnäitajate sisaldusteks konverteerimiseks kasutati instrumendi tarkvara OPUS, mis on litsentseeritud piima koostise kalibreeringutega (OPUS v. 7.5, Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Germany). Kõik proovid analüüsiti kolmes korduses.

Piimaproovide immunoglobuliinide sisaldus määrati ELISA meetodil, kasutades MonoScreen QuantELISA Ig Easy analüüsikomplekti BIO K 420 (Bio-X Diagnostics S.A. Rochefort, Belgium). Kõik proovid analüüsiti kahes korduses.

### Tulemused ja arutelu

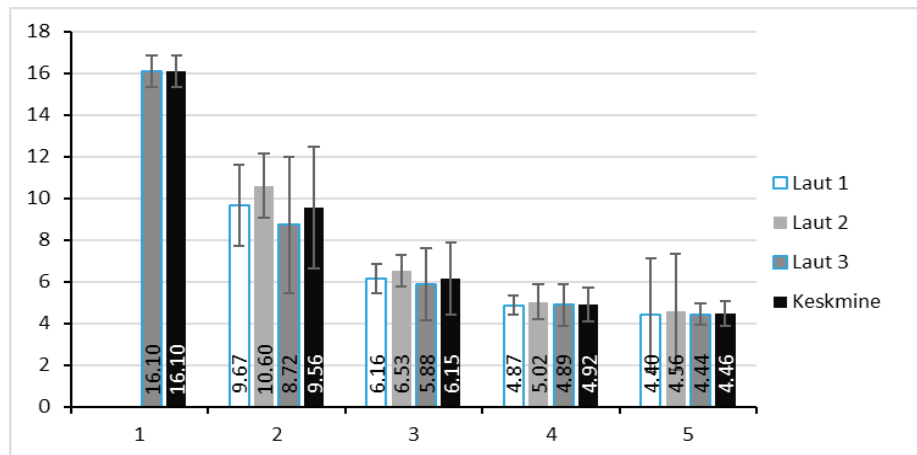
Piima koostisnäitajatest oli kõige stabiilsem ja väiksema varieeruvusega nii lautade kui lüpside lõikes laktoosisisaldus (Joonis 1): piimad sisaldasid keskmiselt  $4,36 \pm 0,31\%$  laktoosi. Kõige suurema varieeruvusega oli piima rasvasisaldus. Keskmisest mõnevõrra (statistiliselt ebaoluliselt) kõrgem oli rasvasisaldus Laudas 1 (6,24%) ning madalam Laudas 2 (5,27%). Lüpside lõikes statistiliselt olulist muutumise tendentsi välja tuua ei saa; keskmiselt oli piimaproovide rasvasisaldus  $5,83 \pm 1,98\%$ .

Erinevalt rasva- ja laktoosisisaldusest vähenes lüpside lõikes valgusisaldus (Joonis 1). Statistiliselt oluliselt ( $p < 0,001$ ) kõrgemad valgusisaldused üleminekupiimade hulgas olid teisel ja kolmandal lüpsil, vastavalt 9,56 ja 6,15%. Neljanda ja viienda lüpside piimas vähenes jätkuvalt valgusisalduse protsent 4,92-lt 4,46-le; see erinevus oli aga märgatavalt väiksem kui eelnevate lüpside jooksul ning ei olnud statistiliselt oluline ( $p > 0,05$ ). Lautade lõikes piima valgusisaldused erinevatel lüpsidel oluliselt ei erinenud.



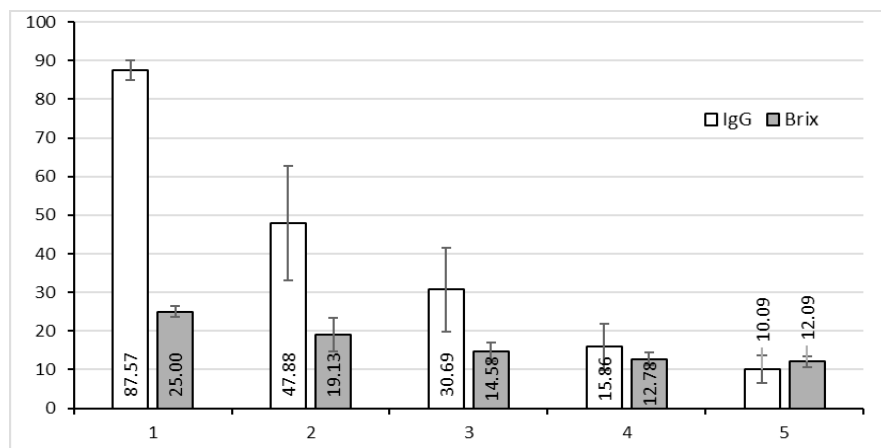
**Joonis 1.** Piima rasva (A), valgu (B) ja laktoosi (C) sisaldused (%) lautade ja lüpside lõikes.

Muutusi piima koostiscomponentide sisalduses peegeldab ka kuivainesisaldus (Joonis 2). Üleminekupiimadest oli oluliselt ( $p < 0,001$ ) kõrgem kuivainesisaldus teisel lüpsil (21,61%). Kolmanda lüpsi piima kuivaine (16,85%) oli oluliselt ( $p < 0,05$ ) kõrgem kui neljanda ja viienda lüpsi vastav näitaja, kuid neljanda ja viienda lüpsi piima kuivainesisalduse langus ei olnud enam statistiliselt oluline. Kuna koostiscomponentide sisalduse osas vastavatel lüpsidel laudad ei erinenud, siis ka kuivaine sisaldus lautade lõikes statistiliselt oluliselt ei erinenud.



Joonis 2. Piima kuivainesisaldus (%) lautade ja lüpside lõikes.

Immunoglobuliinide sisaldus ja Brix näitaja vähenesid igal järgneval lüpsil statistiliselt oluliselt ( $p < 0,001$ ). Lüpsisise varieeruvus oli kõige suurem teisel lüpsil (Joonis 3). Lautadest olid piima immunoglobuliinide sisaldus ja Brix näitaja kõrgemad Lauda 1 ja Lauda 2 lehmade piimaproovides ning madalamad Lauda 3 piimaproovides (Tabel 2).

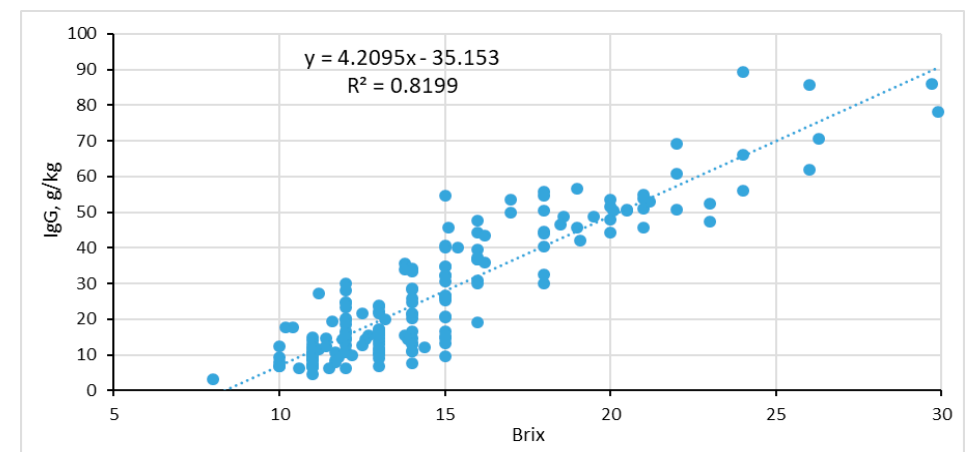


Joonis 3. Üleminekupiima immunoglobuliinide sisaldus (g/kg) ja Brix näitaja lüpside lõikes.

Tabel 2. Üleminekupiima immunoglobuliinide sisaldus ja Brix näitaja lautade lõikes.

Lüps	1	2	3	4	5	Keskmine
<b>IgG, g/kg</b>						
Laut 1		50.60	31.31	18.02	10.43	27.86
Laut 2		52.96	34.63	15.72	11.02	28.58
Laut 3	87.57	41.75	27.31	13.80	8.92	25.68
Keskmine	87.57	47.88	30.69	15.86	10.09	27.24
<b>Brix</b>						
Laut 1		19.62	15.28	13.76	12.99	15.41
Laut 2		20.57	14.80	12.50	12.11	14.99
Laut 3	25.00	17.65	13.76	12.00	11.04	14.10
Keskmine	25.00	19.13	14.58	12.78	12.09	14.81

Kuigi skaala ulatus on IgG-sisaldusel suurem ja mõõtmised täpsemad, siis määramine ise on aeganõudev ja laboritingimusi nõudev ning seetõttu ei ole otsene IgG määramine sobiv kiireks laudasiseseks kasutamiseks preparaadi valmistamiseks sobiva piima valikul. Kuna piimaproovides määratud IgG-sisaldus ja laudas määratud Brix näitaja omavaheline seos on tugev ( $R^2 = 0,82$ ; Joonis 4), siis võib preparaadi valmistamiseks sobilike piimade valikul edaspidi lähtuda ka laudas määratud Brix näitajast. Kõige paremini sobivad preparaadi valmistamiseks teise lüpsi piimad, kuid ka kõrgema Brix näitajaga kolmanda poegimisjärgse lüpsi piimad omavad potentsiaali. Neljanda ja viienda lüpsi piimades on immunoglobuliinide sisaldus juba nii madal, et nendest IgG-rikka preparaadi valmistamine vajaks eraldi ja palju keerukama tehnoloogia väljatöötamist.



Joonis 4. IgG-sisalduse ja Brix näitaja vaheline seos.

Piima koostiskomponendid, v.a laktoos, korreleeruvad tugevalt kuivainesisaldusega (Tabel 3). Piima valgusisaldus on kõrgem varasematel lüpsidel, kui piim sisaldab rohkem immunoglobuliine ning piima Brix näitaja on kõrgem. Iga järgmise lüpsiga vähenes piimas kuivaine-, valgu- ja IgG-sisaldused ning Brix näitaja. Lauda ja laktatsiooni mõju piima koostisele korrelatsioonanalüüsil välja ei tulnud.

**Tabel 3.** Piima koostiskomponentide omavahelised korrelatiivsed seosed.

	Rasv, %	Kuivaine, %	Laktoos, %	Valk, %	Lüps	Brix, %	IgG, g/kg	Laktatsioon
Rasv, %	1							
Kuivaine, %	0.583	1						
Laktoos, %	-0.338	-0.181	1					
Valk, %	0.141	0.879	-0.107	1				
Lüps	-0.049	-0.609	0.161	-0.712	1			
Brix	0.227	0.847	-0.073	0.898	-0.683	1		
IgG, g/kg	0.170	0.813	-0.103	0.891	-0.822	0.905	1	
Laktatsioon	-0.189	0.053	0.003	0.187	-0.014	0.129	0.104	1
Laut	-0.089	-0.040	0.033	0.015	-0.057	-0.140	-0.050	0.086

Statistiliselt olulised ( $p < 0,01$ ) seosed on paksus kirjas

### Immunoglobuliinide kontsentreerimise tehnoloogia väljatöötamine

Immunoglobuliinide sisalduse suurendamiseks preparaadis eraldatakse rasv separeerimisel ning kaseiinvalgud laapfermendiga kalgendamisel. Saadud vadak lüofiliseeritakse külmuivatusel, kuna selline kuivatusviis võimaldab immunoglobuliinidel oma aktiivsust/toimet säilitada. Sobiva kontsentreerimise tehnoloogia väljatöötamisel katsetati kolme erinevat meetodikat: separeerimine toimus enne kalgendamist, separeerimist ei toimunud ja separeerimine toimus peale kalgendamist ning vadaku eraldamist. Esimese katsevariandi puhul tuli ilmsiks, et eriti teise ja kolmanda lüpsi piima on väga tülikas separeerida, kuna rasv ummistab separaatoriplaadid juba väga väikese piimakoguse korral, st tööstuslikumas mastaabis rakendades tähendaks see väga sagedast separaatori puhastamist. Seetõttu katsetatigi järgmisena varianti, kus otsustati separeerimine üldse välja jätta. Antud katsevariandi korral ilmnes, et tänu rasva kõrgemale sisaldusele jäi kalgend nõrgemaks ning vadaku eraldamine oli raskem. Seda näitavad ka katsevariant 2 korral madalamad vadaku saagised võrreldes esimese katsevariandiga (Tabel 4). Ka vadaku kuivaine kogus oli teisel katsevariandil iga lüpsi korral suurem, sest vadakusse jäi märkimisväärne osa rasva. Kuna kuivaines oli rasva osakaal teisel katsevariandil suurem kui esimesel, siis see omakorda põhjustas IgG madalama sisalduse preparaadis (IgG-sisaldus vadaku kuivaines). Kuigi teise katsevariandi (separeerimata) korral sisaldasid algsed

piimad mõnevõrra rohkem immunoglobuliine, jäi vadaku kuivaines (preparaadis) nende sisaldus madalamaks kui katsevariantides, kus piimasid separeeriti. Seda sama näitab ka immunoglobuliinide kontsentreerimise aste, mis oli separeeritud piimast preparaadi valmistamise korral oluliselt kõrgem kui separeerimata piima korral (Tabel 4).

Selleks, et üle saada esimese katsevariandi probleemidest separeerimisel ja teise katsevariandi kõrgemast rasvasisaldusest, modifitseeriti katset selliselt, et separeerimine toimus peale kalgendamist. Selliselt oli IgG kontsentreerimine sama edukas kui esimese katsevariandi puhul ja kuna märkimisväärne osa rasva jäi siiski kalgendisse, siis oli ka separeerimine palju lihtsam.

**Tabel 4.** Erinevate katsevariantide saagised, kuivaine ja IgG-sisaldused.

Variant	1 (3)				2			
	2	3	4	5	2	3	4	5
Vadaku saagis, %	64.75	68.27	73.16	73.66	59.83	60.9	66.99	68.3
Piima kuivaine, %	23.05	15.3	14.4	14.16	21.42	16.57	15.64	15.31
Vadaku kuivaine, %	11.16	8.65	7.7	7.48	11.99	9.33	8.5	8.24
Piima IgG, g/kg	53.77	29.5	15.91	6.95	58.69	34.6	19.99	11.49
IgG piima kuivaines, g/kg	236.92	192.5	111.9	49.87	275.57	208.61	125.15	75.06
Vadaku IgG, g/kg	56.46	37.66	20.89	10.68	62.86	40.96	26.17	14.46
IgG vadaku kuivaines, g/kg	519.47	433.09	269.43	141.59	487.23	333.93	293.49	174.92
Kontsentreerimise aste (IgG)	2.18	2.45	2.97	3.46	1.85	1.94	2.18	2.41

Selleks, et täpsustada, millist piima laudas preparaadi valmistamiseks oleks otstarbekas koguda, kõrvutasime piima Brix näitajaid ja vadaku kuivaine IgG-sisaldusi. Optimaalseks piima Brix näitajaks, mis sobiks preparaadi valmistamiseks, tuleb lugeda 15. Antud kriteeriumile vastasid valdav enamus (89%) teise lüpsi ja peaaegu pooled (49%) kolmanda lüpsi piimaproovidest. Neljanda ja viienda lüpsi piimasid antud meetodil preparaadiks väärindada ei ole otstarbekas. Nendest immunoglobuliiniderikka preparaadi saamiseks on vajalik rakendada juba täiendavaid, märksa keerukamaid ja eriseadmeid vajavad tehnoloogiaid.



## Kokkuvõte ja järeldused

Üleminekupiima valgu, kuivaine ja immunoglobuliinide sisaldused on tugevalt omavahel seotud ning vähenevad iga lüpsiga. Immuunoglobuliinide sisaldused (g/kg) olid teisel, kolmandal, neljandal ja viiendal lüpsil vastavalt 47,88, 30,69, 15,86 ja 10,09. Immuunoglobuliinide sisalduse tugev seos piim Brix näitajaga võimaldab preparaadi valmistamiseks sobivaid piimasid valida laudas lihtsasti määratava Brix näitaja alusel.

Preparaadi valmistamiseks sobib tehnoloogia, kus esmalt ülessoojendatud piim kalgendatakse laapfermendiga kaseiinvalgu eraldamiseks ning eraldunud vadak separeeritakse rasva eraldamiseks. Vesi eraldatakse vadakust külmuivatusel. Antud meetodi korral on IgG-sisaldus preparaadi kuivaines kõige kõrgem ning tehnoloogilised protsessid kõige lihtsamini läbiviidavad.

Preparaadi valmistamisel tuleks lugeda optimaalseks, kui preparaadi kuivaines saavutatakse immunoglobuliinide sisaldus üle 40%. Väljaselekteeritud tehnoloogia kasutamisel saavutatakse see kriteerium, kui algse piima Brix on üle 15. Piima immunoglobuliinide sisalduse alusel sobivad Ig-preparaadi valmistamiseks kasutada teise lüpsi piim ning kõrgema Brix näitajaga (>15) kolmanda lüpsi piimad. Neljanda ja viienda lüpsi piima immunoglobuliinide sisaldus on juba nii madal, et antud suhteliselt lihtsa tehnoloogiaga ei suudeta saavutada piisavat IgG osakaalu preparaadis.

## Tänuõnad

Käesolev uuring on läbi viidud projekti „Immuunglobuliinide preparaadi valmistamise tehnoloogiliste aluste väljatöötamine lehmade poegimisjärgse 2.-5. lüpsi piima väärindamiseks ja selle rakenduslikud aspektid“ (PRIA Uute toodete, tavade, protsesside ja tehnoloogiate arendamise toetus nr 616221790120; L220003VLTQ) raames. Täname Anu Ait OÜ ja lautade personali igakülgse abi eest.

## Composition, quality and valorisation possibilities of transition milk.

*The purpose of this article is to provide an overview of the results of the first stages of the project, which evaluated the composition and quality of milk from the 2nd to 5th postpartum milkings and developed a methodology for the concentration of Ig in the transition milk.*

*The levels of protein, dry matter and immunoglobulins in the transition milk are highly correlated and decrease with each milking. Immunoglobulin levels (g/kg) were 47.88, 30.69, 15.86 and 10.09 for the second, third, fourth and fifth milkings, respectively. The strong correlation between the Brix of the milk and the levels of immunoglobulins allows the preparation of the milk to be selected on the basis of the Brix, easily determinable on site.*

*In freeze-dried preparation/product, the IgG content above 40% is considered optimal/sufficient. The technology developed enables this criterion to be achieved, if the Brix of the original milk is over 15. Based on the content of immunoglobulins in the milk, milk from second and third milking with Brix index >15 are suitable for the preparation of Ig preparation. The content of immunoglobulins in the milk of the fourth and fifth milkings is already so low that with proposed, relatively simple, technology it is not possible to achieve a sufficient content of IgG in the preparation.*

**Keywords:** transition milk, immunoglobulins, concentration technology

Corresponding author: [ivi.joudu@emu.ee](mailto:ivi.joudu@emu.ee) (Ivi Jõudu)

## Ülevaade RESTA14 projekti TAIMLOOMTOIT tulemustest – liha- ja kalatoodetele lisandväärtuse andmine aiandustootmises tekkivate mahlapressjääkidega

Reelika Rätsep<sup>1,2\*</sup>, Mati Roasto<sup>3</sup>, Dea Anton<sup>3</sup>, Kadriin Meremäe<sup>3</sup>, Marek Tepper<sup>4</sup>, Hedi Kaldmäe<sup>1</sup>, Uko Bleive<sup>1</sup>, Kristi Kerner<sup>2,4</sup>, Alar Sünter<sup>3</sup>, Alar Aluvee<sup>1</sup>, Linda Rusalepp<sup>3</sup>, Julia Koskar<sup>3</sup>, Viive Sarv<sup>1,2</sup>, Petras Rimantas Venskutonis<sup>1,5</sup>, Tõnu Püssa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>EMÜ põllumajanduse- ja keskkonna instituut, aianduse õppetool, Polli aiandusuuringute keskus

<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, ERA õppetool VALORTECH

<sup>3</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetooli toiduhügieeni ja –ohutuse üksus

<sup>4</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool

<sup>5</sup>Kaunase Tehnikaülikool, keemilise tehnoloogia teaduskond, toiduteaduse ja -tehnoloogia osakond

\*[reelika.ratsep@emu.ee](mailto:reelika.ratsep@emu.ee)

### Sissejuhatus

Toidu tootmise kõrvalsaaduste väärdamine ja teaduspõhiste tervislike toidutoodete teadus- ja arendustegevus on viimastel aastatel hoogustunud ning ring- ja biomajanduse kontekstis väga oluline. Tarbijate usaldus ja nõudmised seoses teaduspõhiste naturaalse ja tervislike toidutoodetega pidevalt tõusevad, mistõttu on mõistlik otsida keskkonnasõbralikke ja lisandväärtust loovaid lahendusi, seda nii kohaliku taimse kui ka loomse toidutoorme kui ressursi täielikumaks ärakasutamiseks. Aiandus- ja põllukultuuride kasvatamisel tekib põhitoodete kõrval märkimisväärne kogus (30–50%) tervisele kasulikke aineid (nt polüfenoole, karotenoide) sisaldavaid taimseid jääke või kõrvalsaadusi (kestad, seemned, pressjäägid jne), mis võiksid leida kasutust loomset päritolu toiduainetele lisandväärtuse andmiseks ja nende kvaliteedi tõstmiseks. Taimse bioaktiivsete ühendite rikka materjali lisamisega on võimalik oluliselt pidurdada mikroorganismide kasvu ning rasvhapete ja kolesterooli oksüdatsiooni liha- ja kalatoodetes, millega pikeneb ka toodete säilivusaeg. Taimsete lisandite funktsionaalsuse ja kasutamise alased uuringud on aktuaalsed üle maailma, kuid siiski on seni jõutud uurida vaid suhteliselt väikest osa nii maailmas kui

ka Eestis saadaolevast potentsiaalsest taimsest materjalist. Seetõttu on väga oluline sellealase teadus- ja arendustööga jätkamine, kaasates aktiivselt ka põllumajandus- ja aiandustootjaid, kelle ettevõtetes nimetatud saadusi tekib ning toiduettevõtteid, kus valmivates toodetes on võimalik kõrvalsaadusi ära kasutada.

Käesolevaga anname ülevaate RESTA14 programmi teadus- ja arendusprojekti TAIMLOOMTOIT tegevustest ja tulemustest taimsete kõrvalsaaduste väärdamisel liha- ja kalatoodetes. Tegevused viidi läbi EMÜ PKI Polli aiandusuuringute keskuse ning VLI veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni ning toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetooli teadlaste vahelises koostöös.

### Ülevaade RESTA14 projekti TAIMLOOMTOIT tegevustest ja tulemustest

Projekti põhieesmärgiks oli taimse toidutoorme kui ressursi täielikum ärakasutamine ja toorme töötlemisel tekkivate kõrvalsaaduste kasutamine vastuvõetavate organoleptiliste omadustega lisandväärtusega liha- ja kalatoodete valmistamiseks (Rätsep jt, 2021). Taimse materjali valikul arvestati üle kogu Eesti aiandustootmises tekkivate kõrvalsaaduste koguse ja selle ärakasutamise majandusliku tähtsusega, taimse materjali füüsikalise-keemilise ning tervisele kasulike omaduste ning organoleptilise sobivusega liha- või kalatoodetes. Loomsest toormest kasutati värsket seahakkliha, verd ja vikerforelli, eelistades tooraine valikul Eesti liha- ja kalakäitlejate huve.

Projektiperioodil 01.01.2021–31.01.2023 selgitati välja mõnede aiandustootmises tekkivate taimsete kõrvalsaaduste antimikroobsed ja antioksidantsed omadused, hinnati bioaktiivsete ainete pärssivat toimet nii toiduainete riknemist põhjustavate mikroobide kui *L. monocytogenes*’e kasvule ning viidi läbi taimsete lisanditega rikastatud liha- ja kalatoodete sensoorne analüüs toidu organoleptiliste omaduste hindamiseks.

### Projektis kasutatud meetodid ja põhitulemused

Taimsete pulbrite valmistamiseks kasutati pressjääkide kondensatsioonkuivatust, mis oli lihtsaim ja majanduslikult vähem kulukas meetod. Kuivatatud taimne materjal jahvatati seejärel peeneks pulbriks ning pakendati õhu- ja niiskusekindlalt kuni kvaliteedianalüüside tegemiseni ja toidus kasutamiseni. Saadud pulbrite puhul hinnati nende mikrobioloogilist ja biokeemilist kvaliteeti, k.a neis sisalduvate polüfenoolsete ühendite sisaldust ja antioksidatiivset aktiivsust. Taimsetest kõrvalsaadustest sisaldasid aroonia-, pihlaka-, mustasõstra- ja tomatipulbrid enim bioaktiivseid ühendeid, kuna neis leidis rohkem taimseid pigmente (antotsüaanid või karotenoide), mis toimivad lisaks tootele värvuse

andjatena ka antioksidantidena (Rätsep jt, 2022). Selliselt saadud taimsete pulbrite mikrobioloogiline puhtus oli piisav ja sobiv nende kasutamiseks liha- ja kalatoodetes (Koskar jt, 2022).

Taimsete materjalidega nagu sibula- ja küüslaugupulbritega ning õuna, pihlaka, musta sõstra, astelpaju, aroonia, rabarberi ja tomati mahlatootmise pressjägipulbritega rikastatud seahakklihapallidele tehti põhjalik sensoorne hindamine (maitse, lõhn, konsistents, värvus jms). Hindamise tulemusel selgitati välja, millised lisandid jamillises kontsentratsioonisonaktsepteeritavd lihapallide koostises. Edasistes katsetes jäeti valikust välja astelpaju pressjägijahu, kuna selle materjali kõrge õlisisaldus mõjutas nii toote sensoorikat kui ka tekstuuri.

Pärast mõningaid eelkatseid lisati taimseid pulbreid seahakklihale kahes suuremahulises katses, milles lisaks kontrollvariandile ehk puhtale hakklihale kasutati kokku kaheksat erinevat taimset materjali üheksas kuni kolmeteistkümnes erinevas segus. Seejärel viidi läbi katsed, kus taimseid pulbreid lisati verivorstidesse ning hinnati toodete mikrobioloogilisi, füüsikalise-keemilisi ja organoleptilisi näitajaid määratletud säilimisaja jooksul (Meremäe jt, 2023). Potentsiaalikaum oli 2% õuna ja 2% aroonia kombinatsioon, mis säilitas verivorstile omased ja tarbijale vastuvõetavad sensoorsed omadused, sobiva pH, mikrobioloogilise kvaliteedi ning seeläbi ka piisava säilimisaja.

Lisaks uuriti mahlatootmisest pärinevate pressjääkide toimet kala, täpsemalt vikerforelli marinaadis. Esimeses katseseries kasutati õuna, musta sõstra, rabarberi ja tomati pressjääkidest valmistatud marinaade, kuhu oli lisatud ka 0,25% sidrunhapet. Kontrollideks olid äädik- ja sidrunhappe marinaadid. Kõikide marinaadide koostisse lisati 2% soola. Katse analüüsides, k.a organoleptilisest hindamisest selgus, et nii toorest kui kuumtöödeldud vikerforelli on võimalik taimsete marinaadidega väärindada. Leiti, et organoleptilise ja mikrobioloogilise kvaliteedi, k.a pikema säilimisaja tagamiseks on vaja marinaadides kasutatavaid koostisosi ning nende sisaldusi muuta. Uus kestvuskatse ja seonduvad analüüsid teostati 2023. aasta jaanuaris, mistõttu tulemuste avaldamine käesolevas kogumikus ei olnud võimalik.

Viidi läbi nii kestvus- (säilimisaja määramine) kui ka nakatamiskatsed (inglise k. *Challenge-tests*), millega hinnati toidu sisse tahtlikult viidud toidupatogeeni *Listeria monocytogenes*'e kasvupotentsiaali erinevate taimsete lisanditega väärindatud hakklihatoodetes. Nakatamiskatsete tulemusel selgus, et võrreldes kontrollprooviga (ilma lisanditeta hakklihatoode) oli mikroobide üldarv kõikides taimsete lisanditega hakklihatoodete proovides kordades madalam, mis viitab taimsete lisandite mikroobide kasvu pärssivatele omadustele. Kõige rohkem pidurdus mikroorganismide üldarv hakklihatootes, kuhu oli lisatud rabarberit. Erinevate taimsete lisandite kombinatsioonidest oli parima tulemusega õuna,

sibula ja musta sõstra hakklihasse lisamine. Kõikides hakklihatoodetes täheldati *L. monocytogenes*'e kasvu, mistõttu saab väita, et kasutatud taimsetest lisanditest ei piisa selleks, et peatada listeriabakteri kasv. Patogeeni kasv taimsete lisanditega väärindatud toodetes oli väiksem kui kontrollproovis, mistõttu saab väita, et kasutatud taimsete pulbrite kasutamine hakklihatoodetes pidurdab *L. monocytogenes*'e kasvu. Kõige suurem kasvu pidurdus määrati tootes, kuhu oli lisatud 2% rabarberivarre pulbrit (Koskar jt, 2022; Roasto jt, 2023).

Tootmisjääkides sisalduvate bioaktiivsete ainete pidurdavat toimet liha ja kala polüküllastamata rasvhapete (PUFA) oksüdatsioonile hinnati 14 päeva jooksul LC-MS meetodil linoolhappe esmaste oksüdatsiooniproductide oksülipiinide summa (OLS) ja teisese oksüdatsiooniproducti maloondialdehüüdi (MDA) ning tiobarbituurhappega vahelise reaktsiooniproducti (TBARS) sisalduse kasvu põhjal. Katsetatud taimsetest pulbriest näitasid summaarselt paremaid tulemusi hakkliha oksüdatiivse riknemise (rääsumise) pidurdamisel tomati ja rabarberi segu, musta sõstra ja sibula pulbrite segu ning kuni kaheksanda päevani ka tomati ja küüslaugupulbri segu, kõik eelnimetatud koos 3% õunapulbri lisandiga (Püssa jt, 2022). Kuna lisatavate marjade seemned sisaldavad nagu liha või kalagi kergesti oksüdeeruvaid rasvhappeid, siis on otstarbekas vältida seemnete sattumist väärindavasse taimsesse materjali. Meie katsetes ilmnes selline probleem eriti tomatipulbrite korral.

Kõigis katsetes jälgiti lisandite mõju liha või kala värskuse säilimisele uude Time-meetodi abil, mille väljatöötamine ja valideerimine toimub koostöös firmaga Ldiamon AS (Püssa jt, 2019). Liha- ja kalatoodete värskust hinnati adenosiin-trifosfaadi (ATP) ja tema laguproduktide (ADP, AMP, IMP, inosiini ja hüpoksaantiini) hulga alusel selleks Ldiamonis väljatöötatud seadmega. Paralleelselt kontrolliti ATP laguproduktide kohta saadud tulemuste usaldusväärsust UHPLC Uv-Vis-diodrivi detektori ja kvadropoolse lennuaja massidetektoriga (Q-q-TOF-MS). Saadud tulemuste alusel saab jagada liha ja kala seismisel toimuvad protsessid kuude ajalise perioodi: väga värskel liha, autolüüs, autolüüsi lõpp/ bakteriolüüsi algus, aktiivne bakteriolüüs, aktiivse bakteriolüüsi lõpp ja konkurents bakterikoloniate vahel. On märgatav taimse materjali tugev mõju ATP laguproduktide tekkele sõltuvalt eelpool mainitud perioodidest nii lihas kui kalas. Tegemist on uude lähenemisega, mistõttu fenomen nõuab lähemat uurimist (Alar Sünter, avaldamata andmed).

Projekti vältel koguti andmeid nii tulemuste publitseerimise kui ka aruandluse jaoks, tänu millele avaldati neli eestikeelset teadusartiklit: „Mahlapressimisjääkidest valmistatud pulbrite bioaktiivne potentsiaal“ (Rätsep jt, 2022), „Polüfenoolid tomati pressjääkides“ (Anton jt, 2022), „Hakklihatoodete riknemise pidurdamine taimsete tootmisjääkidega“ (Püssa

jt, 2022) ja „Komplekssed kestvuskatsed toidu säilimisaja määramiseks“ (Koskar jt, 2022) konverentsikogumikus „Terve loom ja tervislik toit 2022“, ning kolm artiklit teemadel „Taimsete lisandite mõju verivorstide säilivusele ja kvaliteedile“ (Meremäe jt, 2023), „*Listeria monocytogenes*’e kasvu pärssimise võimalused taimsete lisanditega rikastatud hakklihatoodetes“ (Roasto jt, 2023) ja „Ülevaade RESTA14 projekti TAIMLOOMTOIT tulemustest“ (Rätsep jt, 2023) kogumikus „Terve loom ja tervislik toit 2023“. Lisaks publitseeriti 2022. aastal artikkel teemal „*Microbial growth dynamics in minced meat enriched with plant powders*“ (Koskar jt, 2022) rahvusvaheliselt tunnustatud MDPI teadusajakirjas „*Applied Sciences*“. Ettevalmistamisel on veel mitu artiklit avaldamiseks rahvusvahelistes teadusajakirjades.

RESTA14 projekti TAIMLOOMTOIT viimasel kuul tehti andmeanalüüsi kokkuvõtteid, koostati projekti lõpparuanne. Projekti tulemusi on avalikkusele tutvustatud mitmetel seminaridel ja konverentsidel, sh teadus-praktilisel konverentsil „Terve loom ja tervislik toit“ aastatel 2021–2023.

Aiandustootjatest ja -töötlejatest panustasid projekti oma toorainega Marimarta OÜ (tomatimahla pressjäägiga), Konspek OÜ (mustasõstramahla pressjäägiga) ja Rabafarm OÜ (rabarberimahla pressjäägiga). Projekti raames tehti koostööd ettevõttega Ldiamon seoses nende poolt arendatava, ka antud projekti täitmisel katsetatud liha ja kala värskuse hindamise seadme ja meetodikaga. Verivorstidele lisandväärtuse andmisest oli huvitatud HKScan Estonia ja vikerforelliga varustas projektis läbiviidud kalamarinaadide katseid Kalatalu Härjanurmes.

Projekti teaduslikuks väljundiks on uued teadmised lisandainete toime mehhanismidest kahjulike protsesside pidurdamisel nendega väärindatud liha- ja kalatoodete säilitamisel, mida saab edaspidi kasutada ka praktilistel eesmärkidel.

## Kokkuvõte

Marjade ning puu- ja köögiviljade töötlemisel tekkivate kõrvalsaaduste väärindamisel on potentsiaal, mida on seni vähe rakendatud. Mahlapressimise jääkidest valmistatud pulbritel on tõestatud väärtuslike bioaktiivsete ühendite sisaldus ja sellest tulenev antimikroobne ja antioksidatiivne aktiivsus, mida saab edukalt liha- ja kalatoodetes ära kasutada. Siiski tuleb arvestada, et aianduslike kõrvalsaaduste potentsiaal sõltub nii tooraine kvaliteedist kui ka pulbrite ja toidu töötlemise viisidest ning bioaktiivsete ühendite sisaldus varieerub liigi/ sordi/ kasvuaasta ja isegi partii lõikes.

RESTA14 projekti TAIMLOOMTOIT raames selgus, et taimseid lisandeid on võimalik edukalt kasutada liha- ja kalatoodetele lisandväärtuse andmiseks. Järgnevate projektide eesmärgiks on selgitada välja veelgi efektiivsemad

taimsete lisandite ja nende segude sisaldused erinevate toidumaatriksite koostises, k.a pakendamis- ja säilitamistingimused, kus naturaalsete ja tervisele kasulike taimsete pulbrite lisamine liha- ja kalatoodetesse võimaldab peatada nii oksüdatsiooniprotsesse, toidupatogeenide kasvu kui ka tagada piisavalt pika toidu säilimisaja, seejuures kasutades toidu koostises minimaalselt toidu lisaaineid.

## Tänuõnad

Projekti TAIMLOOMTOIT (F200143PKPA) elluviimist toetasid Euroopa Regionaalarengu Fond ja Eesti Teadusagentuur läbi „Ressursside väärindamise alase TA-tegevuse toetamise” programmi ResTA14.

Uurimustööd on finantseerinud ka Eesti Teadusagentuur (PRG1441) projekti „Looduslike bioaktiivsete ainete toimete mehhanismide uurimine loomsetes toitutes” raames.

Autorid tänavad koostöö ja toormaterjali eest järgmisi ettevõtteid: Marimarta OÜ (tomatimahla pressjääk), Konspek OÜ (mustasõstramahla pressjääk), Rabafarm OÜ (rabarberimahla pressjääk), Ldiamon AS (liha ja kala värskuse hindamise seade ja meetodika), HKScan Estonia AS (tootearenduse ideed ja huvi), Kalatalu Härjanurmes (värsk vikerforell).

## Kasutatud kirjandus

- Anton, D.; Rusalepp, L.; Meremäe, K.; Bleive, U.; Rätsep, R.; Kaldmäe, H.; Roasto, M.; Püssa, T. 2022. Polüfenoolid tomati pressjääkides. Terve Loom ja Tervislik Toit 2022. (75–84). Vali Press OÜ.
- Koskar, J.; Meremäe, K.; Püssa, T.; Anton, D.; Elias, T.; Rätsep, R.; Mäesaar, M.; Kapp, K.; Roasto, M. 2022. Microbial Growth Dynamics in Minced Meat Enriched with Plant Powders. *Applied Sciences*, 12 (21), 1–14. DOI: 10.3390/app122111292.
- Koskar, J.; Roasto, M.; Laikoja, K.; Meremäe, K.; Rätsep, R. 2022. Komplekssed kestvuskatsed toidu säilimisaja määramiseks. Terve Loom ja Tervislik Toit 2022. (95–102). Vali Press OÜ.
- Meremäe, K.; Roasto, M.; Anton, D.; Tepper, M.; Elias, T.; Kerner, K.; Rätsep, R.; Püssa, T. 2023. Taimsete lisandite mõju verivorstide säilivusele ja kvaliteedile. Terve Loom ja Tervislik Toit 2023. (xx–xx). Vali Press OÜ.
- Püssa, T.; Anton, D.; Rusalepp, L.; Meremäe, K.; Roasto, M.; Kaldmäe, H.; Bleive, U.; Rätsep, R. 2022. Hakklihatoodete riknemise pidurdamine taimsete tootmisjääkidega. Terve Loom ja Tervislik Toit 2022. (55–70). Vali Press OÜ.



Püssa, T.; Kuznetsov, A.; Sünter, A.; Frorip, A.; Anton, D.; Raudsepp, P. 2019. Liha ja kala värskuse määramise uudne meetod ja seade ning IMP. Terve Loom ja Tervislik Toit 2019. (62-69). Vali Press OÜ.

Roasto, M.; Meremäe, K.; Koskar, J.; Elias, T.; Rätsep, R. 2023. *Listeria monocytogenes* 'e kasvu pärssimise võimalused taimsete lisanditega rikastatud hakklihatoodetes. Terve Loom ja Tervislik Toit 2023. (xx-xx). Vali Press OÜ.

Rätsep, R.; Kaldmäe, H.; Bleive, U.; Sarv, V.; Anton, D.; Püssa, T.; Roasto, M.; Venskutonis, P. R. 2022. Mahlapressimisjäädikdest valmistatud pulbrite bioaktiivne potentsiaal. Terve Loom ja Tervislik Toit 2022. (30-39). OÜ Vali Press.

Rätsep, R.; Püssa, T.; Roasto, M. 2021. Ülevaade projektist ResTA14 TAIMLOOMTOIT – Taimsete tootmisjäädikde kasutamine liha- ja kalatoodete väärindamiseks ning nende säilivuse ja tervislikkuse parendamiseks. Konverentsi „Terve loom ja tervislik toit 2021“ artiklite kogumik: Terve Loom ja Tervislik Toit, Eesti Maaülikool, Tartu, 03.03.2021-04.03.2021. Toim. Kass, Marko. Eesti Maaülikool: Eesti Maaülikool, 62-66.

### **RESTA14 project TAIMLOOMTOIT – the valorisation of plant-based powders for value-added meat and fish products**

*The valorisation of plant-based by-products and research and development of science-based healthy food products has accelerated in recent years and is very important in the context of the circular and bioeconomy. Consumers' trust and demands regarding science-based natural and healthy food products are increasing, therefore it is reasonable to look for environmentally friendly and value-creating solutions, both for the better use of local plant and animal food raw materials as a resource. The results of the RESTA14 project TAIMLOOMTOIT, revealed that it is possible to use plant additives for valorisation of meat and fish products, but all the variables and influencing factors have not yet been fully clarified. The aim for following project is to find out even more effective recipes and storage conditions in terms of addition of natural and healthy plant-based powders to meat and fish products. The additives help to minimize oxidation processes, stop the growth of *L. monocytogenes*, and to ensure a sufficiently long shelf life, while using a minimum concentrations of food additives in the food composition.*

**Keywords:** valorisation, press-cake, plant-based powders, food quality, value-added products

Corresponding author: [reelika.ratsep@emu.ee](mailto:reelika.ratsep@emu.ee) (Reelika Rätsep)

## **Pihlakamarjade pressjäagi kasutamine sealihast lihapallides**

**Kristi Kerner<sup>1,2,4\*</sup>, Viive Sarv<sup>2,3</sup>, Alo Tänavots<sup>1</sup>, Petras Rimantas Venskutonis<sup>3,4</sup>**

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool

<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, ERA õppetool VALORTECH

<sup>3</sup>EMÜ põllumajanduse- ja keskkonna instituut, Polli aiandusuuringute keskus

<sup>4</sup>Kaunase Tehnikaülikool, keemilise tehnoloogia teaduskond, toiduteaduse ja -tehnoloogia osakond

\*[kristi.kerner@emu.ee](mailto:kristi.kerner@emu.ee)

### **Sissejuhatus**

Liha kui kõrge toiteväärtusega toiduaine omab tähtsat rolli inimese toidulaul. Liha töötlemisel ja säilitamisel toimuvad mitmesugused biokeemilised ning mikrobioloogilised protsessid, mis mõjutavad negatiivselt liha ja lihatoodete kvaliteeti, sh sensoorseid omadusi. Sünteetilised antioksidandid lagunevad kõrgel temperatuuril kergesti ja nende kasutamisel on potentsiaalselt toksiline toime, mistõttu otsivad lihatööstused sünteetilistele antioksidantidele alternatiive (Diez-Sánchez jt, 2021). Suurenenud on nõudlus looduslike, taimset päritolu antioksidantide ja antimikroobsete ainete järele. Taimsed tootmisjäädikud ja põllumajandustootmise kõrvalsaadused on sageli bioaktiivsete ainete rikkamad kui taimedest valmistatud tooted (Fierascu jt, 2020), mistõttu on taimsete jääkide väärindamine üha enam populaarsust kogumas (Diez-Sánchez jt, 2021). Samas saastavad need jäägid prügilatesse ladustatunakeskkonda. Seetõttu on oluline jääke väärindada ja saadusi kasutada toidutoodete nagu pagari-, piima- või lihatoodete tootmisel nende kvaliteedinäitajate parendamiseks. Toiduteadlaste jaoks on suureks väljakutseks toidu säilitamisel toimuvate oksüdatsiooniprotsesside vähendamine või pidurdamine. Viimasel ajal on hakatud uurima mitmesuguste antioksidantsete omadustega taimede kasutusvõimalusi toidutoodetes.

Enamik marju sisaldab väga suurel hulgal erinevaid polüfenoolseid ühendeid: antotsüaanid, flavanoolid, tanniinid ja fenoolhappeid. Seetõttu on nad kõrgelt hinnatud kui looduslikud antioksidandid ja neid on võimalik kasutada lihatoodete



üldise kvaliteedi tõstmiseks. Ka taimede erinevatest osadest valmistatud ekstraktid sisaldavad hulgaliselt antioksidantseid polüfenoole, mistõttu on hakatud neid üha enam kasutama ka lihatoodetes (Shah jt, 2014; Lorenzo jt, 2018; Tamkute jt, 2021).

Hiljuti on ka EMÜ teadlased läbi viinud uuringuid, kus lihatoodetes on kasutatud erinevaid taimi ja nendest saadud ekstrakte, hinnates nende mõju lihatoodete kvaliteedinäitajatele (Anton jt, 2019; Raudsepp jt, 2019; Kerner jt, 2020, 2021). Nende tulemustest selgus, et taimsete lisandite kasutamisega saab pidurdada rasvade oksüdatsiooni lihas, paraneb lihatoodete sensoorne kvaliteet, aga ühtlasi on võimalik vähendada kuumtöötlemiskadusid ning pikendada säilivusaega.

*Sorbus aucuparia* L. ehk harilik pihlakas on laialt levinud heitlehine lehtpuu, mille marju on traditsiooniliselt kasutatud mooside, siirupite, likööride jm toodete valmistamiseks. Pihlakamarjad on rikkad erinevate orgaaniliste ühendite (karotenoidid, askorbiinhape, polüfenoolsed ühendid jms) sisalduse poolest (Raudonis jt, 2014; Zymone jt, 2018; Sarv 2020). Peamised pihlakamarjades leiduvad polüfenoolid on klorogeenhapped, mida esineb vastavalt sordile vahemikus 56–80% kõikide polüfenoolide koguhulgast (Kylli jt, 2010; Sarv jt, 2020). Teadaolevalt on pihlakamarjade pressjäagi väärindamise alaseid teadustöid siiani väga vähe läbi viidud. Samuti puuduvad andmed pihlakamarjade pressjäagi kasutamise kohta lihatoodetes. Seetõttu oli käesoleva töö eesmärgiks hinnata, kuidas pihlakamarjade pressjäagist valmistatud lisandid mõjutavad sealihast lihapallide sensoorseid omadusi ja kvaliteeti.

## Materjal ja meetodika

Antud töös kasutusel olnud pressjäak valmistati seguna kolmest 2021. aasta sügisel Polli aiandusuuringute keskusest korjatud kõrge antioksidantsusega pihlaka (*S. aucuparia*) sordi marjade mahla pressimise jäägist. Töösse valiti sordid Likernaja (*S. aucuparia* hübriid × *Aronia melanocarpa*), Solnetšnaja (*S. aucuparia* seemik) ja harilik pihlakas, kuna need eristusid teistest kõrge polüfenoolide üldsisalduse poolest. Hübriidsordil Likernaja oli ka 17 sordi võrdluses kõige kõrgem antotsüaanide sisaldus (Sarv jt, 2021).

Käesoleva töö jaoks rasvatustati pihlaka pressjäakide segu üle kriitilise CO<sub>2</sub> ekstraktsioonimeetodiga saades lihapallide jaoks lisand nimetusega PC. Sensoriselt sobivaimaks osutus lihapall, milles sisaldus 2% PC-d. Järgnevalt viidi 15 min jooksul läbi rasvatustatud pressjäagi mikrolaine (300W) ekstraktsioon etanool:vesi (50:50) keskkonnas, kus pressjäagi ja lahusti vahekord oli 1:10. Pärast ekstraktsiooni eraldati ekstraheerimise jääk (J) filtreerimise teel. Ka antud lisandi sensoorsete eelkatsete tulemusena osutus sobivaimaks kontsentratsiooniks

2%. Kolmanda lisandi saamiseks eraldati ekstraktist rotaatoraurutiga etanool ja külmuivatamise teel vesi. Saadi tahke ekstrakt (E), mille sensoriselt sobivaim kontsentratsioon lihapallis oli 1%. Töös kasutatud pressjäakide antioksidantsus määrati kolmel meetodil, kasutades DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenüül-1-pikrüülhüdrasüül), ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-asino-bis(3-etüülbensotiasoliin-6-sulfoonhape) ning ORAC (hapniku radikaali) neutraliseerimisvõime katseid. Käesolevas töös kasutatud kolme pihlakasordi pressjäagi polüfenoolide üldsisaldus (TPC) on toodud tabelis 1.

**Tabel 1.** Pihlaka pressjäakide antioksidatiivsed karakteristikud (Sarv jt, 2021)

	TPC (mg GAE/g kuivaines)	DPPH <sup>•</sup> (µM TE/g kuivaines)	ABTS <sup>•+</sup> (µM TE/g kuivaines)	ORACt (µM TE/g kuivaines)
Likernaja	41,3	527,6	508,9	128,5
Solnetšnaja	28,3	324,5	321,9	146,6
Harilik pihlakas	31,7	358,6	313,2	135,2

Kõik need tulemused olid 17 pihlakasordi võrdluses üle keskmise (Sarv jt, 2021) ja seetõttu otsustati just nendest pihlakasortidest valmistatud pressjäakide segu kasutada lihapallides.

Järgnevalt hinnati saadud lisandite mõju kuumtöödeldud ja seejärel jahutatud sealihast valmistatud lihapallide kvaliteedinäitajatele. Lihapalle säilitati MAP-pakendatult (70% N<sub>2</sub> ja 30% CO<sub>2</sub>) 4 °C keskkonnas. Lisanditega lihapallide kvaliteedinäitajaid võrreldi ilma lisanditeta kontrollprooviga nende säilitamise 1. ja 6. päeval. Kõik kvaliteedianalüüsid tehti kolmes korduses.

Pihlakamarjade ekstrakti mõju lihapallide kuumtöötlemiskaole hinnati valmistamispäeval (1.). Selleks kuumtöödeldi neid eelsoojendatud ahjus Inoxtrend E1 CUA-107E (Via Serenissima, Itaalia) 145 °C juures 15 minutit toote sisetemperatuuri +72 °C saavutamiseni. Iga seeria kuue lihapalli, mille veesisaldus oli 11%, alg- ja lõppmass kaaluti toatemperatuuril ja massikadu leiti protsentides.

Andmeanalüüsiks ja tulemuste visualiseerimiseks kasutati MS Excel 365 ja R 4.2.2 statistikaprogramme. Mudelist arvatud vähimruutkeskmised on esitatud koos standardhälbega.

## Tulemused ja arutelu

Käesoleva töö raames segati lihapallidesse pihlakamarjade pressjägist valmistatud lisandeid lähtuvalt sensorsetest eelkatsetest vaid 1–2%, mistõttu märkimisväärseid muutusi lihapallide keemilises koostises ei täheldatud (Tabel 2). Ainult rasvasisaldus vähenes võrreldes kontrollprooviga, eriti lihapallides, kuhu oli lisatud kiudaineterikkaid lisandeid PC ja J. Ekstraheerimisjäagi J lisamine vähendas kuumtöötlemiskadu võrreldes kontrollprooviga ligi 13%. Sarnaseid tulemusi on täheldatud ka teiste autorite poolt, kus näiteks 3% suhkrurookiu lisamine suurendas veiselihast lihapallide saagist (Mena jt, 2020), tomatikiu lisamine (1, 2 ja 3%) vähendas kuumtöötlemiskadusid kanalihast toodetes (Cava jt, 2012) ning lõikheina (*Cyperus esculentus* L.) kiu lisamine sealihast burgeripihvidesse (5, 10 ja 15%) suurendas märkimisväärselt toodete saagist võrreldes kontrollprooviga (Sánchez-Zapata jt, 2010).

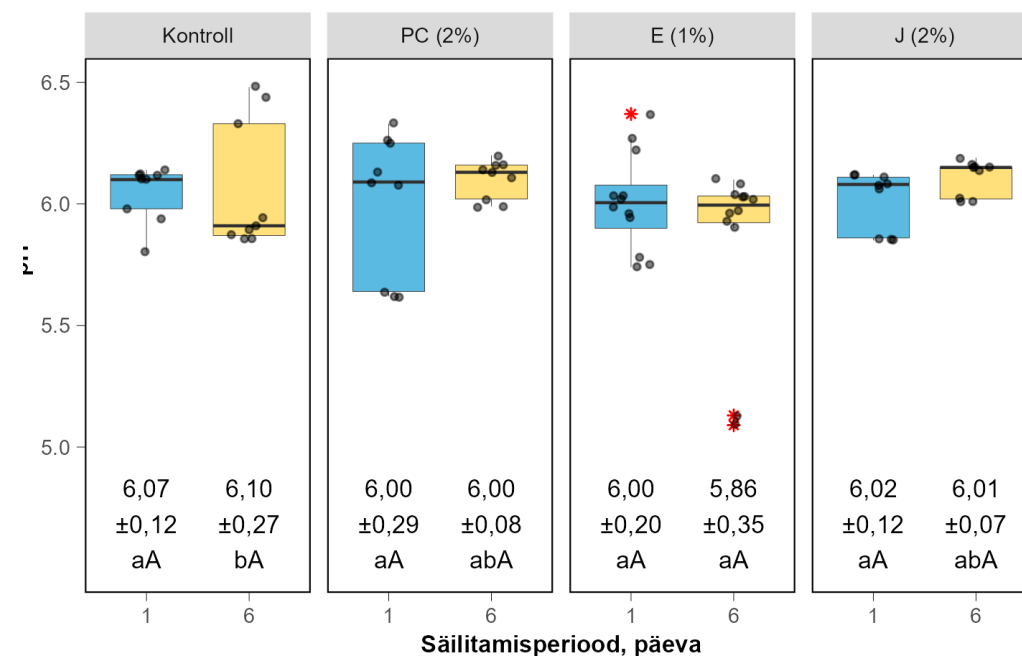
**Tabel 2.** Lihapallide keskmine keemiline koostis ja kuumtöötlemiskadu (keskmine±s)

Proov	Niiskus (g/100g)	Valk (g/100g)	Rasv (g/100g)	Tuhk (g/100g)	Kuum- töötlemis- kadu (%)
Kontroll	57,90±2,33 <sup>a</sup>	20,74±0,35 <sup>a</sup>	21,05±0,86 <sup>b</sup>	2,04±0,276 <sup>a</sup>	23,33±2,05 <sup>ab</sup>
PC (2%)	58,48±4,03 <sup>a</sup>	20,59±0,24 <sup>a</sup>	15,20±4,54 <sup>a</sup>	2,00±0,045 <sup>a</sup>	24,27±2,42 <sup>ab</sup>
E (1%)	57,62±2,13 <sup>a</sup>	20,64±1,22 <sup>a</sup>	19,33±1,38 <sup>b</sup>	1,85±0,027 <sup>a</sup>	26,23±4,97 <sup>a</sup>
J (2%)	59,31±1,83 <sup>a</sup>	19,40±1,25 <sup>b</sup>	17,00±0,30 <sup>ac</sup>	1,94±0,109 <sup>a</sup>	20,17±3,66 <sup>b</sup>

\*<sup>a, b, c, d</sup> Erinevad tähed veergudes viitavad erinevuste olulisusele keskmiste vahel ( $p < 0,05$ ) Tukey *post-hoc* testil

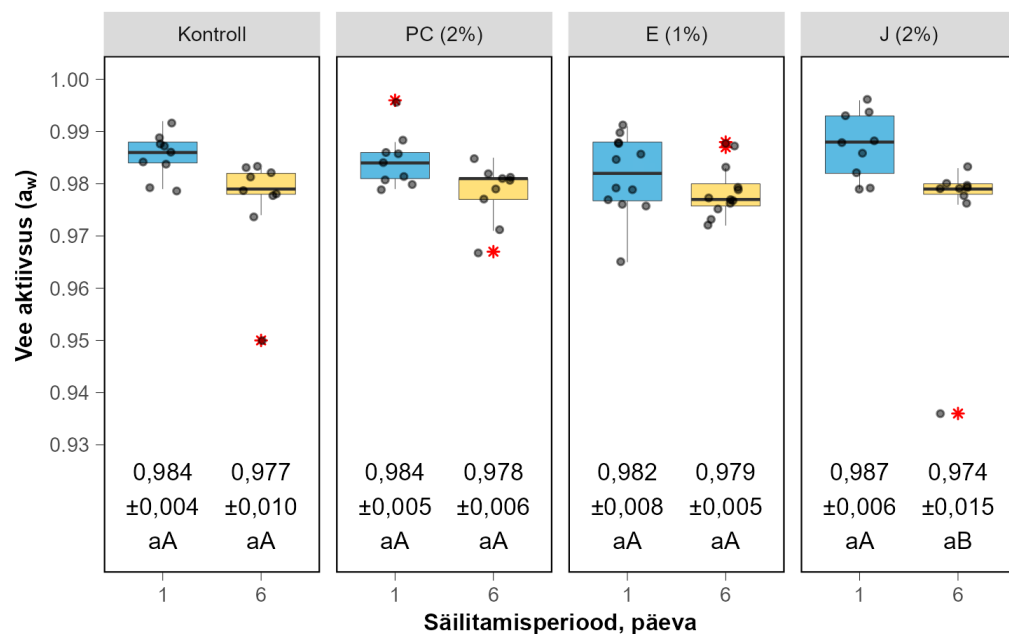
Kontroll – proov ilma lisanditeta, PC (2%) – ülekritilise CO<sub>2</sub> ekstraktsioonimeetodiga rasvatustatud pihlakamarja pressjäak, E (1%) – rasvatustatud jäägi etanool:vesi ekstrakt, J (2%) – ekstraheerimisjäak.

Liha pH on oluline parameeter, mis mõjutab ka selle teisi kvaliteedinäitajaid nagu värvust, veehoidmisvõimet, mahlakust ja värskust. Selle langus võib põhjustada toidu vastuvõetamatut maitset ja tehnoloogilise kvaliteedi halvenemist, samas aga mõjuda inhibeerivalt mikroorganismide kasvule. Oluliselt madalam pH-väärtus võrreldes kontrollprooviga leiti lihapallides, millesse oli lisatud rasvatustatud pihlakamarjajäägi etanool:vesi ekstrakti E (joonis 1). Selline pH langus võis olla tingitud eelpool mainitud pihlakamarjades leiduvast klorogeenhappest. Teiste proovide puhul (PC ja J) jäi pH kuuepäevase säilitamisperioodi jooksul stabiilseks, samal ajal kui kontrollproovi pH tõusis, mis viitab mikrobioloogilisele riknemisele. Sama tulemust on täheldatud ka Tamkute jt (2021) töös, kus lisades aroonia ekstrakti kuumtööteldud singile, jäi selle pH 36-päevase säilitamise jooksul 4 °C juures konstantseks, kontrollproovi pH aga tõusis.



**Joonis 1.** Erinevate pihlakamarjade pressjäegade mõju kuumtööteldud lihapallide pH-väärtusele kuuepäevase säilivuse jooksul (Karp-vurrud diagrammil tähistab horisontaalne rasvane joon (—) mediaani ning hallid punktid (\*) näitavad tegelikke väärtuseid ja punase tärniga (\*) on tähistatud ekstreemsed väärtused. Keskmine±s. Erinevate väiketähtedega on tähistatud variantide vahelised statistilised erinevused sama päeva siseselt ja erinevate suurte kirjatähtedega säilituspäevade vahelised erinevused variantide siseselt). Kontroll – proov ilma lisanditeta, PC (2%) – ülekritilise CO<sub>2</sub> ekstraktsioonimeetodiga rasvatustatud pihlakamarja pressjäak, E (1%) – rasvatustatud jäägi etanool:vesi ekstrakt, J (2%) – ekstraheerimisjäak

Vee aktiivsus ( $a_w$ ) on oluline faktor lihatoodete säilivuse seisukohalt. Lihapallidel mõõdetud  $a_w$ -väärtused jäid vahemikku 0,974–0,987 (joonis 2). Kõige suurem  $a_w$  langus (1,3%) tuvastati J-lisandit sisaldavas proovis. Selline  $a_w$  langus aga ei oma suurt mõju lihapallide säilivusele.



**Joonis 2.** Erinevate pihlakamarjade pressjääkide mõju kuumtöödeldud lihapallide  $a_w$ -väärtusele kuuepäevase säilivuse jooksul (Karp-vurrud diagrammil tähistab horisontaalne rasvane joon (—) mediaani ning hallid punktid (\*) näitavad tegelikke väärtuseid ja punase tärniga (\*) on tähistatud ekstreemsed väärtused. Keskmine  $\pm$ s. Erinevate väiketähtedega on tähistatud variantide vahelised statistilised erinevused sama päeva siseselt ja erinevate suurte kirjatähtedega säilituspäevade vahelised erinevused variantide siseselt). Kontroll – proov ilma lisanditeta, PC (2%) – ülekritilise CO<sub>2</sub> ekstraktsioonimeetodiga rasvatustatud pihlakamarja pressjääk, E (1%) – rasvatustatud jäägi etanool:vesi ekstrakt, J (2%) – ekstraheerimisjääk

### Kokkuvõte ja järeldused

Käesoleva uurimistöö tulemused näitasid, et pihlakamarja pressijääki kui looduslike antioksüdante sisaldavat kõrvalsaadust on võimalik edukalt väärindatult kasutada sealihast lihapallide kvaliteedi parendamiseks. Kiudainerikka ekstraktsioonijäägi J kasutamine vähendas lihapallide kuumtöötlemiskadusid võrreldes ainult sealihast valmistatud tootega. Ekstrakti E kasutamine aga pärsis lihapallides oleva rasva oksüdatsiooni ning seega võimaldas säilitada lihapalle pikemalt.

Saadud tulemustest võib järeldada, et pihlakamarja pressijäägi ekstrakti näol on tegemist paljulubava antioksüdante sisaldava lisandiga, mille kasutamisel lihapallides on võimalik parandada toodete kvaliteeti.

### Tänuõnad

Uurimistööd on finantseeritud Euroopa Liidu Horisont 2020 teadusuuringute ja innovatsiooni programmi projektist Toidu- ja kõrvalsaaduste väärindamise tehnoloogiate ERA õppetool Eesti Maailikoolis - VALORTECH (leping nr 810630); töö läbiviimist toetas projekt „PlantValor – terviklik tootarendusteenus sünergias Polli aiandusuuringute keskuse traditsiooniliste tegevusvaldkondadega“, mida rahastas Riigi Tugiteenuste Keskus ning autorid tunnustavad ka Eesti Maaeluministeeriumi programmi „Toidu ja põllumajanduse taimede geneetiliste ressursside kogumine ja säilitamine aastatel 2014–2020“.

### Kasutatud kirjandus

- Anton, D., Koskar, J., Raudsepp, P., Meremäe, K., Kaart, T., Püssa, T., Roasto, M. 2019. Antimicrobial and antioxidative effects of plant powders in raw and cooked minced pork. *Foods*, 8:661.
- Cava, R., Ladero, L., Cantero, V., Ramirez, R.M. Assessment of Different Dietary Fibers (Tomato Fiber, Beet Root Fiber, and Inulin) for the Manufacture of Chopped Cooked Chicken Products. *Journal of Food Science*, 77(4), 346-352.
- Fierascu, R.C., Sieniawska, E., Ortan, A., Fierascu, I., Xiao, J. 2020. Fruits By-Products – A Source of Valuable Active Principles. A Short Review. *Front Bioeng Biotechnol*, 8:319.
- Diez-Sánchez, E., Quiles, A. and Hernando, I., 2021. Use of Berry Pomace to Design Functional Foods. *Food Reviews International*, pp.1-21.
- Kerner, K., Jõudu, I., Tänavots, A. 2020. Taimsete ekstraktide kasutamisest lihatoodetes. Konverentsi „Terve loom ja tervislik toit 2020“ artiklite kogumik, Tartu, (toim. M. Kass), 4.-5. märts 2020. Tartu, Eesti Maailikool, lk 25–31.
- Kerner, K., Jõudu, I., Tänavots, A., Venskutonis, P. R. 2021. Application of Raw and Defatted by Supercritical CO<sub>2</sub> Hemp Seed Press-Cake and Sweet Grass Antioxidant Extract in Pork Burger Patties. *Foods*, 10(8), 1904.
- Kylli, P., Nohynek, L., Puupponen-Pimiä, R., Westerlund-Wikström, B., McDougall, G., Stewart, D. and Heinonen, M. Rowanberry Phenolics: Compositional Analysis and Bioactivities. *J. Agric. Food Chem.* 58, 22, 11985–11992.
- Lorenzo, J. M., Pateiro, M., Dominguez, R., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., Shpigelman, A., Granato, D., & Franco, D. 2018. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*, 106, 1095–1104.
- Mena, B., Fang, Z., Ashman, H., Hutchings, S., Ha, M., Shand, P. J., & Warner, R. D. 2020. Influence of cooking method, fat content and food additives on physicochemical and nutritional properties of beef meatballs fortified with sugarcane fibre. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 2381–2390.

Raudsepp, P., Koskar, J., Anton, D., Meremäe, K., Kapp, K., Laurson, P., Bleive, U., Kaldmäe, H., Roasto, M., Püssa, T. 2019. Antibacterial and antioxidative properties of different parts of garden rhubarb, blackcurrant, chokeberry and blue honeysuckle. *J. Sci. Food Agric.*, 99:2311–2320.

Tamkutė, L., Vaicekauskaitė, R., Melero, B., Jaime, I., Rovira, J., & Venskutonis, P. R. 2021. Effects of chokeberry extract isolated with pressurized ethanol from defatted pomace on oxidative stability, quality and sensory characteristics of pork meat products. *LWT*, 150, 111943.

Pihlanto, A., Mattila, P., Mäkinen, S., Pajari, A.-M. 2017. Bioactivities of alternative protein sources and their potential health benefits. *The Royal Society of Chemistry. Food and Function*. 8, pp. 3443-3458

Raudonis, R., Raudonė, L., Gaivelytė, K., Viškelis, P. ja Janulis, V. 2014. Phenolic and antioxidant profiles of rowan (*Sorbus L.*) fruits. *Natural Product Research*, 28 (16): 1231–1240.

Sarv, V., Venskutonis, P.R. and Bhat, R., 2020. The *sorbus* spp.—underutilised plants for foods and nutraceuticals: Review on polyphenolic phytochemicals and antioxidant potential. *Antioxidants*, 9(9), p.813.

Sarv, V., Venskutonis, P.R., Rätsep, R., Aluvee, A., Kazernavičiūtė, R., Bhat, R., 2021. Antioxidants Characterization of the Fruit, Juice, and Pomace of Sweet Rowanberry (*Sorbus aucuparia L.*) Cultivated in Estonia. *Antioxidants*, 10(11), 1779.

Sánchez-Zapata, E., Muñoz, C.M., Fuentes, E., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Pérez-Alvarez, J.A. Effect of tiger nut fibre on quality characteristics of pork burger. *Meat Science*, 85, 70-76.

Shah, M.A.S., Bosco, S.J.D., Mir, S.A. 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1): 21–33.

Tamkutė, L., Vaicekauskaitė, R., Melero, B., Jaime, I., Rovira, J., Venskutonis, P. R. 2021. Effects of chokeberry extract isolated with pressurized ethanol from defatted pomace on oxidative stability, quality and sensory characteristics of pork meat products. *LWT*, 150, 111943.

Zymone, K., Raudone, L., Raudonis, R., Marksa, M., Ivanauskas, L. ja Janulis, V. 2018. Phytochemical profiling of fruit powders of twenty *Sorbus L.* Cultivars. *Molecules*, 23(10): 2593.

### ***Application of rowan berry pomace in pork meatballs***

*In the current study, defatted with supercritical CO<sub>2</sub> rowanberry pomace (PC, 2%), its ethanol:water extraction residue (E, 1%) and extraction residue (J, 2%) was used in pork meatballs to assess their effect on quality parameters on 1. and 6. day of storage. Addition of extraction residue (J) reduced the cooking loss by nearly 13% compared to the control sample. There were no significant changes in the chemical composition of meatballs. The pH was significantly lower in meatballs with ethanol:water extraction residue (E, 1%) due to the chlorogenic acid found in rowanberries. The a<sub>w</sub> values of meatballs were in between 0.974-0.987. The use of extract (E, 1%) inhibits the oxidation in the meatballs and thus allows the meatballs to be stored longer.*

*From the obtained results, rowan berry pomace extracts can be considered as promising natural antioxidants improving the quality of meat products.*

**Keywords:** *Sorbus aucuparia berry pomace, pork meatballs, antioxidativity, meat quality*

*Corresponding author:* [kristi.kerner@emu.ee](mailto:kristi.kerner@emu.ee) (Kristi Kerner)



## Toores lihas toimuvate protsesside jaotus perioodideks energiarikaste nukleotiidide (ATP) laguproduktide sisalduste muutumise alusel

Alar Sünter<sup>1,2\*</sup>, Artur Kuznetsov<sup>2</sup>, Tõnu Püssa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, toiduhügieeni ja -ohutuse üksus

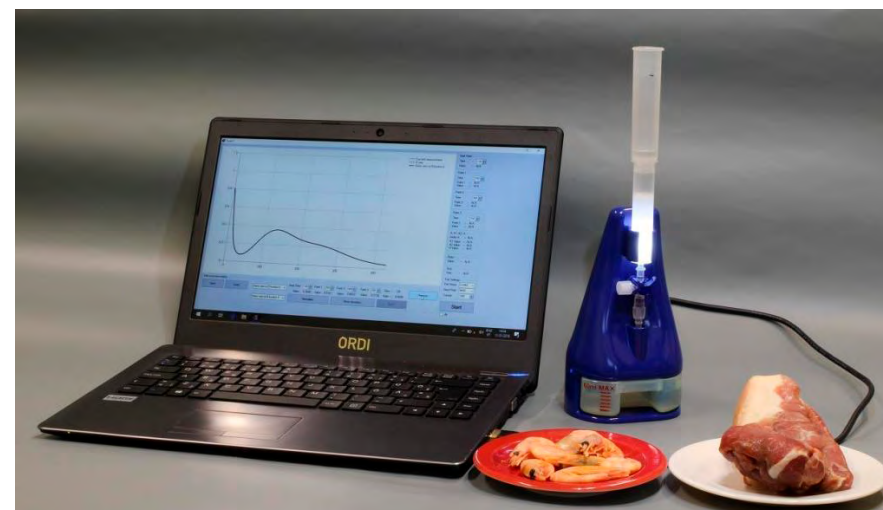
<sup>2</sup>AS Ldiamon, Tartu Teaduspark

[\\*alar.synter@emu.ee](mailto:alar.synter@emu.ee)

### Sissejuhatus

Toidu valmistamiseks valime toore liha eelkõige välimuse ja lõhna järgi. Need näitajad on enamasti kasutusel ka liha kvaliteedi määramise nn sensorikameetodi põhikomponentidena. Tihti saame pidada toitu kõlbmatuks alles vastava lõhna, välimuse ja maitse tekkel s.o kui autolüüsi ja bakteriolüüsi tagajärjed on lihas ilmselged. Ennustada liha konkreetset säilivusaja lõppu saame aga siis, kui jälgime liha seismisel toimuvaid protsesse aja jooksul, kasutades selleks mõõdetavaid parameetreid nagu lenduvate ühendite teke, oksüdeerumisprotsesside käik, mikroobide hulk. Kahjuks esineb kõigi nimetatud näitajate puhul lag faas ehk periood mille jooksul markerid ei ole veel selgelt jälgitavad. Kõige adekvaatsemateks värskuse hindamise markereiks peetakse seetõttu adenosiintrifosfaadi (ATP) laguprodukte järjekorras ATP → adenosiidifosfaat (ADP) → adenosiinmonofosfaat (AMP) → inosiinmonofosfaat (IMP) → inosiin (ino) → hüpoksaantiin (Hx) kuna nende hulga muutused on nähtavad liha seismise kogu aja jooksul väga värskest kuni kasutuskõlbmatuni. (Augustini jt, 2001). Kõige sagedamini on kasutatud ATP laguproduktide baasil arvatud värskuse indekseid kala värskuse hindamisel (Hong jt, 2017). Nende markerite abil on võimalik iseloomustada liha hetke seisukorda ja pakkuda välja valemite kala või liha kvaliteedi languse arvutamiseks igal ajahetkel. Tihti on aga vajalik täpsemate mõõtmiste jaoks kasutada keerulisi ja kalleid meetodeid ning seadmeid (Hong jt, 2017).

Tartu Teaduspargis tegutsev AS Ldiamon on juba mõni aasta tagasi töötanud välja odava ja lihtsa seadme toore liha ja kala kvaliteedi määramiseks energiarikka nukleotiidi, adenosiintrifosfaadi (ATP) laguproduktide sisalduste muutumise baasil (joonis 1).



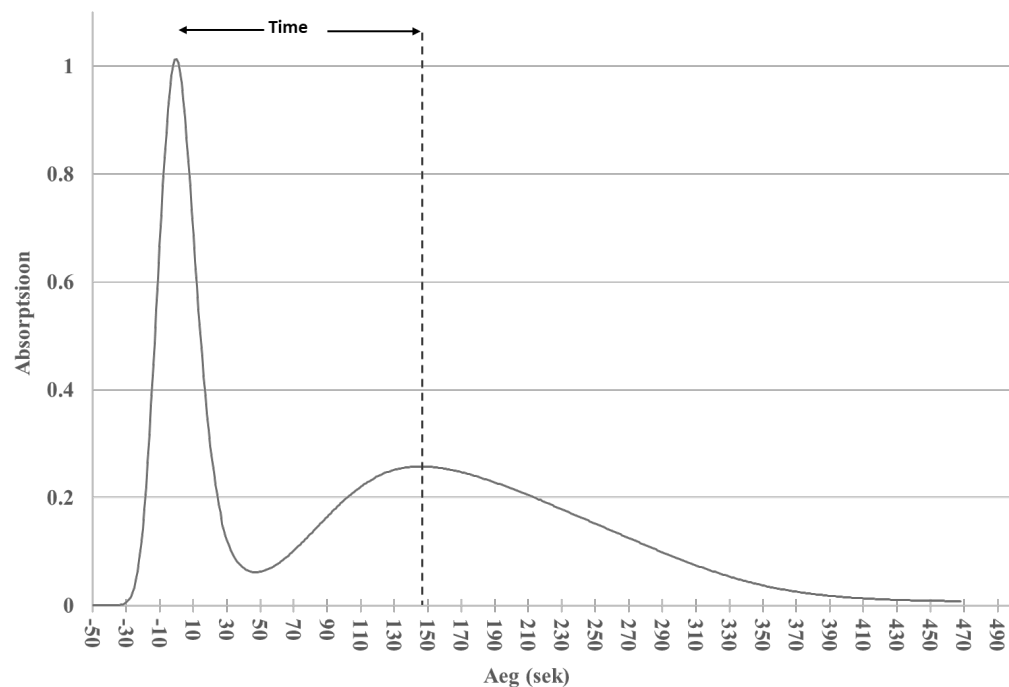
**Joonis 1.** Lihtne geelfiltratsiooni seade liha või kala kvaliteedi hindamiseks.

Käesolev töö on 2019 aastal konverentsil Terve loom ja tervislik toit ettekantu järg (Püssa jt, 2019). Siis oli põhitähelepanu suunatud AS Ldiamon poolt välja töötatud aparaadi tööpõhimõtte ja värskuse indeksi tutvustamisele. Meetodi põhimõtteid ja vastava seadme kasutamist on hiljuti põhjalikult kirjeldatud ajakirjas *Chemometrics* avaldatud artiklis (Kuznetsov jt, 2023). Käesoleva uuringu eesmärk oli välja tuua nimetatud seadme abil määratud liha vananemise erinevad perioodid.

### Uurimistöö meetodika

Töös kasutati geelfiltratsiooni nähtust kus poorse maatriksiga (Sephadex G-25 graanulid) täidetud kolonni läbivad proovi molekulid jaotatakse vedeliku (puhvri) voos vastavalt molekulide suurusele. Suured molekulid nagu valgud ei sisene pooridesse ja väljuvad kolonnist esimestena, väiksemad liiguvad läbi erineva suurusega pooride, hilinedes niiviisi vastavalt oma suurusele. Viimasteks väljujateks jäävad kõige väiksemad molekulid, mis on ka ATP laguproduktide rea lõpus (Hx). Sensori poolt määratud tulemuste põhjal joonistatud graafik on üksikute komponentide summa, kus tooni annavad proovis antud hetkel kõige enam esinevad laguproduktid. Nii nihkub liha seismisel teise (nukleotiidide) piigi maksimum esimese piigi (ained molekulkaaluga üle 5 kDa) suhtes ehk Time (aeg, ajavahemik) väärtus kasvab. Time väärtusega on tähistatud mainitud lihtsa geelfiltratsiooni seadme kohta seni avaldatud materjalides ajavahe sekundites kromatogrammi esimese kitsa piigi (ained molekulkaaluga üle 5 kDa, enamasti valke sisaldav piik) ja teise, lameda piigi (enamasti ATP-d ja selle laguprodukte sisaldav piik) vahel (joonis 2), kusjuures ATP Time väärtus on 95 ja Hx Time väärtus 275 sekundit.





**Joonis 2.** Time-väärtuse (ajavahemik) arvutamine nukleotiidide geelfiltratsiooni graafikul.

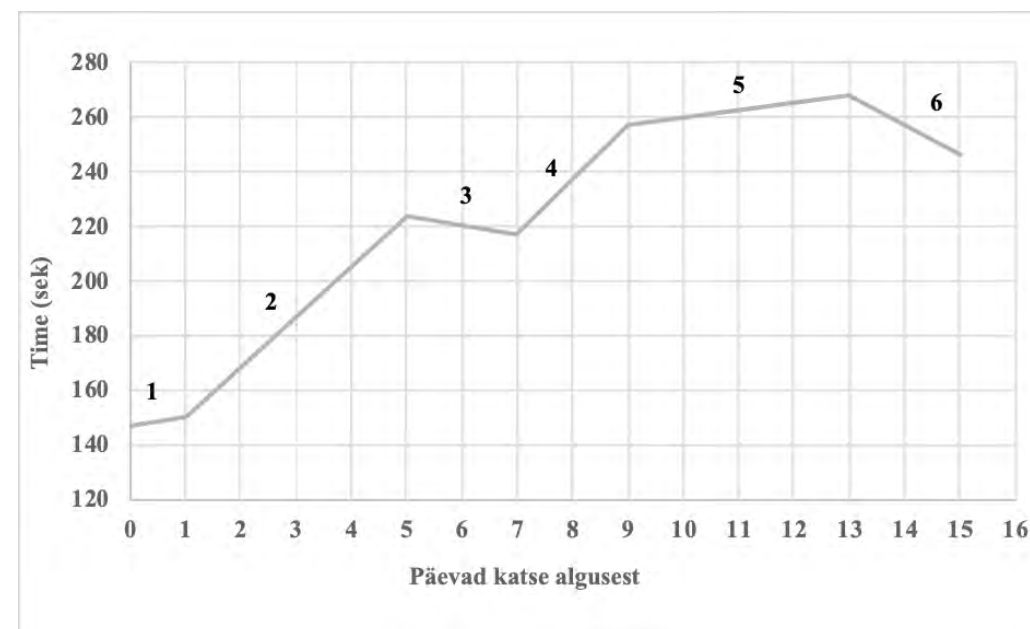
Seade kalibreeriti veise seerumi albumiini (BSA) ja hüpoksantiini lahustega (Time väärtus vastavalt 0 ja 275 sekundit).

Toormena kasutati kaubandusest ostetud värsket seahakkliha (AS Rakvere lihakombinaat), mida säilitati 4 °C juures külmkapis, kust võeti proovideks tsentrifuugituubidesse 2 g kaupa vastavalt katse ajalisele graafikule. Tuubidesse lisati 6 ml puhvri kohta 2 g hakkliha ja tuube loksutati 15 min toatemperatuuril. Peale tsentrifuugimist ja filtreerimist läbi 0,45 µm pooriga klaaskiudfiltri kanti 0,2 ml proovi Sephadex G-25 kolonnile ning tulemus saadi 10 minuti jooksul.

Loetud Time väärtused on toodud joonisel 3.

### Tulemused ja arutelu

Kuigi siin toodud tulemused on saadud vaid kahe katseseeria baasil, on siiski võimalik välja tuua tendents, mis lubab jagada liha vananemise kuueks perioodiks. Analoogse liha vananemisprotsessi perioodideks jagunemise on varem avaldanud Hattula oma doktoridissertatsioonis (Hattula, 1997).



**Joonis 3.** Time väärtuste muutus seahakkliha seismisel külmkapis 15 päeva jooksul. Numbrid joone kohal tähistavad erinevaid perioode liha seismisel.

Kõige loogilisem selgitus saadud tulemustele oleks:

periood 1: väga värsket liha, organismis toimunud elupuhused protsessid ei ole lihas veel katkenud (Matarneh jt, 2017);

periood 2: autolüüs, liha lagunemine toimub põhiliselt liha enda komponentide, eeskätt ensüümide toimel, värskete lihale omase maitse tekkimine ja tugevnemine ning lihale omaste bakteritsiidsete toimetega katkemine (Matarneh jt, 2017);

periood 3: autolüüsi lõpp, bakterite kasv ja bakteriolüüs on lag-faasis;

periood 4: kiire bakterikasv ja aktiivne bakteriolüüs (log-faas), ebameeldiva lõhna, maitse ja välimuse kujunemine;

periood 5: aktiivse bakteriolüüsi lõpp, bakterid ja seemned konkureerivad toidulaua pärast;

periood 6: tugev konkurents bakterite ja seente vahel; ühed kolooniad kaovad ja teised tekivad (Barer, 2019).

## Kokkuvõte ja järeldused

Kuna energia ülekanne ATP baasil on looduses universaalne, siis saab ATP-l põhinevat meetodit kasutada mitte ainult sealihaga, vaid ka krevetite-, kala-, lamba-, veise-, kana- ja miks mitte ka taimsetel baasil valmistatud liha kvaliteedi hindamisel.

Edaspidi on kavatsus teha katsete kordused statistilise analüüsi jaoks, mille tulemusena saaks juba leida valemid liha kvaliteedi languse kõige tõenäolisema ajalise graafiku väljatöötamiseks.

Arvatavasti on vajalik lihatoodete säilivusega seotud uuringutes arvestada erinevustega käesolevas töös välja toodud ajaperioodides.

## Tänuõnad

Uurimustööd on finantseerinud Eesti Teadusagentuur (PRG1441).

Käesolev uuring on läbi viidud projekti „Taimsete tootmisjäätmete bioaktiivsete komponentide kasutamine loomsete toiduainete säilivuse ja tervislikkuse suurendamiseks või loomsete toitumise väärimiseks“ (TAIMLOOMTOIT, RESTA14) raames. Täname koostööpartnereid ja labori personali igakülgse abi eest.

## Kasutatud kirjandus

- Augustini, T., Suzuki, T., Hagiwara, T., Ishizaki, S., Tanaka, M., & Takai, R. (2001). Change of K value and water state of yellowfin tuna *Thunnus Albacares* meat stored in a wide temperature range (20C to -48C). *Fisheries Science*(67), 306-313.
- Barer, M. R. (2019). Bacterial growth, physiology and death. In M. R. Barer, W. Irving, A. Swann, & N. Perera, *Medical Microbiology. A Guide to microbial infections: pathogenesis, immunity, laboratory investigation and control* (pp. 39-53). Elsevier. Retrieved from [https://books.google.ee/books?id=SYIIDwAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.ee/books?id=SYIIDwAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Hattula, T. (1997). *Adenosine Breakdown Products as a freshness indicator in some fish species and fish products*. Technical Research Centre of Finland. Helsinki: VTT publications.
- Hong, H., Regenstein, J. M., & Luo, Y. (2017). The importance of ATP-related compounds for the freshness and flavor of post-mortem fish and shellfish muscle. A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1787-1798. doi:0.1080/10408398.2014.1001489

Kuznetsov, A., Frorip, A., Sünter, A., Kasvand, N., Korsakov, V., Konoplev, G., Mukhin, N. (2023). Fast Protein and Metabolites (Nucleotides and Nucleosides) Liquid Chromatography Technique and Chemical Sensor for the Assessment of Fish and Meat Freshness. *Chemosensors*, 69. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/chemosensors11010069>

Matarneh, S. K., England, E. M., Scheffler, T. L., & Gerrard, D. E. (2017). The Conversion of Muscle to meat. In F. Toldra, *Lavrie's Meat Science* (pp. 159-185). Woodhead Publishing.

Püssa, T., Kuznetsov, A., Sünter, A., Frorip, A., Anton, D., & Raudsepp, P. (2019). Liha ja kala värskuse määramise uus seade. Inosiinhapest. *Konverentsi "Terve loom ja tervislik toit 2019" artiklite kogumik*, 62-69.

## *Division of the processes occurring in raw meat into periods, based on changes in the contents of energy-rich nucleotides (ATP) breakdown products.*

*The aim of this study was to describe time periods in processes going on by meat ageing using simple instrument for monitoring nucleotide (ATP) degradation products. As a result of the research, six time periods in the ageing of meat were established.*

**Keywords:** *meat quality, liquid chromatography, nucleotide degradation, meat preservation*

Corresponding author: [asynter@emu.ee](mailto:asynter@emu.ee)

## Taimedes sisalduvate mürgiste ainete ülekanne loomsetesse toiduainetesse

Tõnu Püssa

*EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetool, toiduhügieeni ja –ohutuse üksus*

[tonu.pyssa@emu.ee](mailto:tonu.pyssa@emu.ee)

### Sissejuhatus

Käesoleva artikli eesmärgiks on anda lühiülevaade olulisematest taimedest pärit mürgiste ainete ülekandumise teedest ja tasemetest söötade kaudu loomsetesse kudedesse, mida inimene kasutab toiduks. Kvaliteetse ja ohutu loomasööda tootmine, mille alla kuulub ka artiklis käsitletavate ainete minimeerimine söödas, on oluline nii põllumajandusloomade ja -lindude tervise ja produktiivsuse kui ka inimese tervise ja muu heaolu seisukohalt (Kass jt, 2021).

### Mürkainete teekond söödataimedest loomsetesse kudedesse

Taimedes sisalduvad või nendega juhuslikult koosinevad mürkained võib oma tekkelt jagada mitmesse rühma. Ühes neist on taimede poolt mullast, veest ja õhust omastatud mürgid nagu inimtekkelised keskkonna saasteained, kuhu kuuluvad fossiilsete kütuste põlemisel ja tööstuslikel emissioonidel vabanenud elavhõbe, plii ja kaadmium, taimekaitsevahendite jäägid ning geokeemilised mürkained arseen, seleen, fluor jt. Teises rühmas on ained nagu alkaloidid, tsüanogeenid ja muud fütotoksiinid, mida valmistavad taimed ise oma elutegevuse vajadusteks, põhiliselt relvadeks teiste taimede, aga ka loomade ning mikroorganismide vastu. Eraldi võib välja tuua taimega seotud mikroosete poolt sünteesitud mürkained ehk mükotoksiinid, millest mõned nagu näiteks aflatoksiinid on ühed kõige ohtlikumad mürkained üldse.

Kui toiduks kasutatav loom sööb ühel või teisel viisil saastatud taimi, siis koos vajalike toitainetega liiguvad ka mürkained looma organismi, kus nad võivad imendumise ja ainevahetuse ehk metabolismi järel jõuda kudedesse, mida inimene kasutab toiduks. Sellise teekonna tõenäosus ja täpsed liikumised sõltuvad mürgise aine füüsikalistest ja keemilistest omadustest (molekuli suurus, rasvlahustuvus ehk lipofiilsus, mida mõõdetakse aine jaotuskoefitsiendiga  $\log P_{ow}$  hüdfoobse *n*-oktanooli (o) ja vee (w) faaside vahel, reaktsioonivõimeliste

funktsionaalrühmade sisaldumine aine molekulis jne), millest sõltuvad aine imenduvus seedetraktist verre ning sealt edasi kudedesse, pooleluaeg looma organismi eri osades, alluvus ainevahetusele ning elimineeritavus organismist eri kanalite kaudu, st omaduste kompleksist, mis määravad aine toksikokineetika ja -dünaamika, mis aga omakorda sõltuvad looma liigist ning konkreetse isendi geneetilisest pagasist. Parimal juhul, kui aine imenduvus seedetraktist, millele vastab madal  $\log P_{ow}$  väärtus, on ligikaudu 0%, ei jõua see aine kindlasti kudedesse. Halvimal juhul, kui aine imendub täielikult, milleks parim  $\log P_{ow}$  vahemik on 3-5, võib see jõuda ka kudedesse, mida inimene sööb. Enamus imendunud mürkaineid satub kõigepealt vere kaudu maksa, kus need muundatakse tavaliselt vees paremini lahustuvateks ehk hüdfoilsimateks metaboliitideks ning saadetakse elimineerimisele neerude, kopsude või piimanäärmete kaudu. Osa ainst ja/või metaboliidist võib jõuda ka lihas- või rasvkoesse. Piisavalt rasvlahustuva ehk hüdfoobse aine molekulid võivad akumulieruda maksas, neerudes või rasvkoes. Oma teekonnal organismis võib mürgine aine või eriti tema ainevahetuse esimeses etapis aktiveeritud metaboliit väga sageli avaldada kahjulikku toimet juba loomale endale, eriti aga tema maksale ja neerudele.

Tulemusena võib mürkaine või tema metaboliit jõuda inimtoiduks kasutatavasse loomsetesse materjali, milleks on liha, maks, neerud, munad, piim ja mesi. Erinevatel ainetel on oluliselt erinev ülekandefaktor loomasöödast toidutoormesse  $TF_i = C_i / C_{sööt}$ , milles  $C$  on aine sisaldus loomses koes (lihas, rasvkude, maks, neerud, piim, munad) ja  $C^i$  on selle aine sisaldus looma söödas, kaasa arvatud allaneelatud muld (mg/kg<sup>sööt</sup> kuivainet) (MacLachlan, 2011). Paljude toidu saasteainete lubatud maksimaalsed sisaldused loomses toidutoormes on toodud Euroopa Komisjoni määruses (EC) Nr 1881/2006 (EC, 2006).

Mürkainete liikumist loomade organismis on võrreldes toitainete liikumisega seni suhteliselt vähe uuritud, vähe on kvantitatiivseid andmeid nii absoluutsete koguste kui ka protsentide skaalas ööpäevasest tarbimisest. Kvantitatiivseid vahetuid söömisel omastatud ja söödavatesse kudedesse jõudnud ainehulkade vahel on suhteliselt lihtne määrata piima ja munade korral. Lihaloomadel on söödavatesse kudedesse ladestunud aine koguseid hoopis keerulisem kindlaks teha, adekvaatne proovivõtt ja ekskreetide analüüs pole alati kohaldatav. Lisaks alluvad paljud orgaanilised ained muundustele ehk metabolismile, sel korral tuleb määrata kõrvuti lähteühendiga ka metaboliite, mille nimekiri ja mürgisused pole aga kaugeltki alati teada.

Edasi vaatleme mõningaid olulisemaid mürgiste ainete ülekandeid erinevatesse loomsetesse inimtoiduks kasutatavatesse organitesse/kudedesse.

## I Piim

Mürkained või nende ainevahetussaadused elimineeritakse imetajate organismist mitme põhitee kaudu, milleks on soolestik, neerud, kopsud, nahk, lakteerivatel indiviididel ka piimanäärmed. Piima ei loeta füsioloogiliselt väga oluliseks elimineerimiskeskkonnaks, kuid see võib selleks osutada toiduohutuse vaatevinklist. Tänu oma kahefaasilisele struktuurile võib piim sisaldada väga erineva lahustuvuse ja  $\log P_{ow}$  väärtusega toksilisi aineid, tavaliselt siiski madalates kontsentratsioonides. Enamike hüdrofiilsete, aga ka kiiresti metaboliseeritavate rasvlahustuvate ehk lipofiilsete ainete poolelugaeg piimas on tavaliselt lühike, sest nende vees paremini lahustuvad metaboliidid elimineeritakse organismist sekreteerimise põhiteede kaudu ning nad ei pruugi jõudagi piimanäärmetesse. Seetõttu on siin põhiprobleemiks nii looma noore järglase kui ka inimese võimalik pikemaajaline korduv krooniline kokkupuude nende ainetega (Lopes jt, 2019).

Rasvlahustuvatest püsivatest orgaanilistest saasteainetest (POP) on suure ülekandefaktoriga söödast piima DDT ja selle metaboliidid DDE ja DDD (0,25), ka lindaan (0,2) ja dioksiinid ( $\Sigma$  TEQ, 0,13), millel on ka kõrge positiivne oktanol-vesi jaotuskoefitsient  $\log P_{ow}$ . Mükotoksiinidest on aga olulisim aflatoksiin B1 (AFB1) (0,015), (MacLachlan, 2011), mis veise ja ka teiste imetajate organismis metaboliseeritakse hüdroksüülimise teel M-rühma kuuluvaks ühendiks AFM1. AFM1 on stabiilne piimas ja piimatoodetes, ei lagune pastöriseerimisel ega jogurti või juustu valmistamisel. Nii A- kui ka M-rühma aflatoksiinid on kõik muta-, kantsero- ja teratogeenid. Levinum aflatoksiin AFB1 on tugevaim tuntud kantserogeenne aine, tema toime avaldub loomkatsetes juba päevadoosil 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  kehakaalu kohta. Võrdluseks, teisel tuntud kantserogeenil dimetüülnitroosamiinil on vastav arv 750  $\mu\text{g}/\text{kg}$  kehakaalu kohta. AFB1-l on täheldatud ka mitmekülgset akuutset toksilisust,  $LD_{50}$  sõltuvalt loomaliigist on 0,3–18  $\text{mg}/\text{kg}$  kehakaalu kohta. Teiste mükotoksiinide ülekanduvus piima on oluliselt madalam (MacLachlan, 2011).

Taimekaitsevahenditest on üheks levinumaks laiaspektriline süsteemne fosfororgaaniline herbitsiid glüfosaat (*N*-fosfonometüülglütsiin), mida kasutatakse umbrohtude (eriti üheaastaste) tõrjeks kogu maailmas nimetuse all Roundup, mille patent kustus 2000. a. Glüfosaat inhibeerib aromaatsete aminohapete sünteesil osalevat ensüümi ning imendub taime lehestiku kaudu, toimides seega juba kasvavatele taimedele. Kuni kolme kuu pikkused söötmiskatsed imetajatega on näidanud glüfosaadijääkide ohutust teraviljade seemnetes. Siiski võib Roundupi manustamine veega üle lubatud piiride põhjustada maksa ja neerude häireid. Lisaks glüfosaadi sooladele sisaldavad Roundupi kaubanduslikud vormid erinevaid koguseid erinevaid lisandeid nagu

näiteks pindaktiivsed ained. Laboriuuringud on näidanud, et viimased võivad suurendada glüfosaadi mürgisust. Glüfosaat laguneb kiiresti pehmes vees, andes kõigepealt aminometüülfosfoonhappe (AMPA) jt laguproduktid, protsess lõpeb  $\text{CO}_2$  ja ammoniumioonide tekkega. Karedas vees võib aga glüfosaat kompleksimoodustamise tõttu leelismuldmetallidega säilida hoopis kauem (Jayasumana jt, 2014).

Onalust arvata, et loomsed koed, välja arvatud maks ja neerud nende füsioloogiliste funktsioonide tõttu, ei tohiks sisaldada analüüsitava koguses glüfosaati, juhul kui loomi söödetakse taimedega, mida on kasvatatud vastavalt glüfosaadi kasutamise eeskirjadele. Põhjuseks on glüfosaadi kõrge lahustuvus vees (10,5  $\text{g}/\text{L}$ ) millele vastab negatiivne oktanol-vesi jaotuskoefitsient ( $\log P_{ow} = -3.2$ ), mistõttu see sekreteeritakse kiiresti neerude kaudu (Vicini jt, 2020). Terve rea uuringute käigus pole glüfosaadijääke leitud ei lehma- ega ka rinnapiimast, samuti on negatiivsed tulemused saadud täispiimapulbri analüüsimisel nii glüfosaadi kui ka AMPA sisalduse suhtes. Siiski avastati ELISA kiti kasutamisel glüfosaadi jäägid nn kohalikus piimas, kuid samas on teada, et nimetatud määramismeetod võib anda ka valepositiivseid tulemusi.

Umbes 3% maakeral kasvavatest taimedest sisaldavad pürrolisidiinalkaloide (PA), kokku on tuvastatud 660 erinevat PA-d, mis põhiliselt on seotud kolme taimeperekonnaga – *Asteraceae*, *Boraginaceae* ja *Fabaceae*. Mulder jt (2018) on uurinud muta-, kantsero- ja teratogeensete, lisaks ka akuutse toimega (maksaveenide sulgumine) PA-de sisaldust lehmapiimas. Aktiivsed on sealjuures nende pürroolrühma sisaldavad metaboliidid. Leitud tasemed olid siiski suhteliselt madalad, 0,05–0,17  $\mu\text{g L}^{-1}$  kohta. Samas on spetsiaalsetes katsetes (Hoogenboom jt, 2011) saadud ristirohu ehk voolmerohu (*Senecio*) PA-de korral üldiseks ülekandefaktoriks söödast piima umbes 0,1%, taimes suhteliselt madala sisaldusega PA jakoliini jaoks aga kuni 4%. Jaekaubandusest pärit piima analüüsimisel ei pruugi PA-sid avastada, sest ka ühe farmi piima kõrge PA-sisaldus väheneb tööstuses tarbija jaoks oluliselt (Mulder jt, 2018).

Teistest alkaloididest pakuvad piimaga seoses huvi tropaanalkaloidid nagu atropiin ja skopolamiin, mida leidub sekundaarsete metaboliitidena seitsme Euroopas kasvava perekonna taimedes, näidetena võib tuua hariliku ogaõuna (*Datura stramonium*) ja koera-pöörirohu (*Hyoscyamus niger*). Katse, milles lehmad said söödaga erinevates doosides kuni 279  $\mu\text{g}/\text{kg}$  kehakaalu kohta ülalmainitud tropaanalkaloide, andis ülekandefaktoriks  $TF_p$  vastavalt atropiinile ja skopolamiinile, 0,037 ja 0,007%, kõrgeimal kasutatud doosil saadi nende alkaloidide sisalduseks piimas  $1,60 \pm 0,07 \mu\text{g}/\text{kg}$ . See pole küll väga kõrge sisaldus kuid siiski tähelepanu vääri, eriti juhul kui on tegemist üksiku farmi tasemel piimaga (Lamp jt, 2021).



Toiduohutuse teemaga võivad olla seotud ka kvinolisidiinalkaloidid nagu sparteiin või multifloriin, mida leidub sinises lupiinis (*Lupinus angustifolius*) ning mille ülekandefaktor söödast piima on vastavalt 0,13 ja 3,74%, kusjuures katsesse võetud lupiinimaterjal sisaldas ligi 2 mg/kg kuivaine kohta kvinolisidiinalkaloide (Engel jt, 2022).

## II Munad

Mitmed rasvlahustuvad püsivad orgaanilised saasteained liiguvad söödast kanade organismi kaudu munakollasesse, siin on ülekandefaktor ligikaudu 1. Tugevaima teadaoleva kantserogeeni aflatoksiin B1 ülekanne kana ja vuti munadesse on toiduohutuse seisukohast esmapilgul tühine (0,00042 ja 0,0005) (MacLachlan, 2011). Arvestades aga AFB1 kõrget toksilisust on ka selline ülekanne siiski tähelepanu väärt.

Mürgistest keemilistest elementidest on leitud kanamunadest kõigi organismide talitluseks sobivates doosides vajalikku, aga üledoseerimisel mürgist antioksidantsüsteemi ensüümide koosseisu kuuluvat seleeni (ülekandefaktor 0,75), kaadmiumi (0,079), tsinki (0,014) (MacLachlan, 2011).

Mulder jt (2018) on uurinud pürrolidiinalkaloidide sisaldust munades. 205-st analüüsitud proovist sisaldasid vaid kaks väga madalates kontsentratsioonides (0,10–0,12  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) vaba aluse vormis samu PA-sid mis piimas. Sellest võib järeldada, et kanade sööta satuvad PA-d väga harva, pole siin ka lahjenemisvõimalust nagu piima korral. Samas on aga oht, et kui PA-d juba satuvad munadesse, siis kõrgetes kontsentratsioonides. PA-sid leiti ka samade kanade lihases ja maksast, kelle munadesse olid PA-d liikunud (Mulder jt, 2018). Spetsiaalkatses lisati kanade söödale 14 päeva jooksul 0,5% nelja erinevat PA-taime (kas kuivatatud harilikku (*Senecio vulgaris*), kitsalehelist (*S. inaequidens*) või volme-ristirohtu (*S. jacobaea*) või harilikku ussikeelt (*Echium vulgare*) või 0,1% harilikkuheliotroopi (*Heliotropium europaeum*) (Mulder jt, 2016b). Nendes taimedes leiduvad PA-d jõudsid põhiliselt munakollasesse tasemel 2–216  $\mu\text{g kg}$  kohta ülekandefaktoriga 0,02–0,23%. Veidi aega pärast viimase doosi saamist tapetud lindude lihast leiti PA-de jääke mõnevõrra madalamal tasemel (2–5 korda) kui munadest, nende maksades aga tuvastati aga 1,5–3 korda kõrgem PA-de tase kui munades. Kõigis uuritud maatriksites oli ligikaudu sama pürrolisidiinalkaloidide profiil.

## III Liha ja rasv, maks ja neerud

Erinevate loomade liha ja rasv võivad olla mitmete oluliste taimede kaudu loomasööta jõudnud mürkainete allikaks inimtoidus.

Väga hästi jõuavad erinevate loomade ja eriti lindude rasvkoesse paljud püsivad orgaanilised saasteained eesotsas DDT ja tema metaboliitide ning dioksiinidega. Nii on DDT ( $\log P_{ow}=6,19$ ) ja metaboliitide ülekandefaktor söödast linnurasva koguni 14!, linaanalil ( $\log P_{ow}=4,34$ ) ja dioksiinide kompleksil 8,8. Veiserasva korral on vastavad arvud 5,3; 5,3 ja 4,3 ning searasva korral 4,0; 3,7 ja 4,5. Hoopis madalam on, vastavalt 0,031 ja 0,0008, endokriinsete häirijate dioksiinilaadsete polükloorbifenüülide (dl-PCB) ülekanduvus söödast linnu- või searasva (MacLachlan, 2011).

Tuntumatest mikrosete mürkidest omab suurimat ülekandefaktorit  $TF_i$  sea maksa, neerudesse ja lihasesse tugev, mitme erineva toksilisuse mehhanismiga toimiv maksa- ja neerumürk ohratoksiin A (OTA) 0,038–0,11. Teistest mükotoksiinidest paistab kõrgema ülekandefaktoriga samadesse maatriksitesse silma östrogeensete omadustega zearalenoon (ZEA) ning ülekandega sea maksa ja neerudesse kantserogeenne fumonisiin B1 (FB1). Aflatoksiin B1 ülekanne loomsesse toitu on küll oluliselt väiksem, suurim on selle mürkaine  $TF_i$  ülekandel sea neerudesse (0,0043), maksa (0,0023) ja lihasesse (0,0016), kuid arvestades jälle kõrget muta-, kantsero- ja teratogeensust ning hepatotoksilisust, ei tohi teda kindlasti tähelepanuta jätta.

Mürgistest metallidest tuleb nende sihtorganite korral eelkõige nimetada kaadmiumi, mis liigub lihakana neerudesse ja maksa vastavalt ülekandefaktoriga 8,2 ja 1,4 ning seleeni, mille vastav  $TF_i$  on lihakana korral 2,4 ja 1,9 (MacLachlan, 2011). Seleen jõuab ka kana lihasesse faktoriga 0,7. Arvestada tuleb ka söödast pärit elavhõbeda ja plii võimaliku jõudmisega lihakana maksa ja neerudesse.

## IV Mesi

Mesi on väga oluline toksikantide, mille mesilased on taimedelt koos õietolmuga kogunud, allikas.

Perekonna ristirohud (*Senecio*) liikide mees on registreeritud pürrolisidiinalkaloidide (senetsioniinid), sisalduseks 0,3–3,2  $\mu\text{g/kg}$ , eriti kõrged sisaldused (kuni 55  $\mu\text{g/kg}$ , enamikes positiivsetes proovides siiski alla 18  $\mu\text{g/kg}$ ) on aga mõõdetud Šveitsi Alpide eelmäestike mees (Kast jt, 2014). Kuna inimesele toksilised doosid on vahemikus 0,1–10 mg/kg kehakaalu kohta ööpäevas, siis mee normaalse tarbimise juures ei tohiks siin toiduohutuse seisukohalt probleeme siiski olla.

Mesilaste korjetaimede põldude töötlemine pestitsiididega võib põhjustada pestitsiidijääkide sisaldumist mees. Pestitsiidid võivad sattuda meesse ka mitte-meetaimede pritsimisel põlluäärsete meetaimede kaudu ning selline mesi



võib sisaldada kogu mesila ümbruskonnas kasutatud pestitsiidijääkide spektrit (Karise jt, 2017). Eestis määrati 47 erineva taimekaitsevahendi sisaldus 33-s 2013. ja 2014. aasta meeproovis ning leiti, et pestitsiidijääkide maksimaalne lubatud sisaldus (MRL) oli siiski ületatud vaid neljal juhul, leitud aineteks olid herbitsiidid klopüraliid (*clopyralid*) ja glüfosaat, kumbki kahel korral (Karise jt, 2017). Autorite hinnangul oli piirnormi ületamisel tõenäoliselt tegemist vahetult pärast pritsimist korjatud meega, sest glüfosaadijääkide sisaldused õites võivad jääda küllaltki kõrgeks veel vähemalt seitsme päeva jooksul pärast taimede töötlemist (Thompson jt, 2014).

Mesi võib sisaldada toksilisi raskmetalle nagu plii, arseen või elavhõbe, ka vaske, kroomi, koobaltit ja niklit. Kuna taru korjema on suur (üle 7 km<sup>2</sup>, teistel andmetel aga veel mitu korda suurem) ning mesilased satuvad kontakti nii õhu, vee kui ka mullaga, peegeldab raskemetallide sisaldus mees hästi olukorda kogu sellel alal. Mesi on seepärast tunnustatud keskkonna saastatuse ühe bioindikaatorina. Erinevate mürkainete, sealhulgas metallide, sisaldumisest mees võib lugeda ka sama konverentsi 2018. aasta kogumikust (Püssa, 2018).

## Kokkuvõte

Paljud erinevad taimedest pärit mürgised ained jõuavad meie toidulauale loomsete toitainete koostises. Enamasti on siin tegemist küll mikrokogustega, kuid pideval tarbimisel võivad nad siiski kujutada ohtu nii loomale kui ka inimesele. Palju on selliste ainete ja nende metaboliitide toiduahelas liikumise ja kahjulike mõjude kohta veel uurimata.

## Kasutatud kirjandus

- EC. 2006. Commission Regulation (EC) No 1881/2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the EU, L 364/5.
- Engel, A.M., Klevenhusen, F., Moenning, J.-L., Numata, J., Fischer-Tenhagen, C., Sachse, B., Schäfer, B., Fry, H., Kappenstein, O., Piepe, R. 2022. Investigations on the transfer of quinolizidine alkaloids from *Lupinus angustifolius* into the milk of dairy cows, *J. Agric. Food Chem.* 70:11749–11758.
- Hoogenboom, L.A., Mulder, P.P., Zeilmaker, M.J., van den Top, H.J., Rimmelink, G.J., Brandon, E.F., Klijnstra, M., Meijer, G.A., Schothorst, R., van Egmond, H.P. 2011. Carry-over of pyrrolizidine alkaloids from feed to milk in dairy cows. *Food Addit. Contam. Part A.* 28:359–372.
- Jayasumana, C., Gunatilake, S., Senanayake, P. 2014. Glyphosate, hard water and nephrotoxic metals: Are they the culprits behind the epidemic of Chronic Kidney Disease of unknown etiology in Sri Lanka? *Int. J. Environ. Res. Public Health* 11:2125-2147.

- Kan, C.A. 2009. Transfer of toxic substances from feed to food. *R. Bras. Zootec.* 38:423-431.
- Karise, R., Raimets, R., Bartkevics, V., Pugajeva, I., Pihlik, P., Keres, I., Williams, I.H., Viinalass, H., Mänd, M. 2017. Are pesticide residues in honey related to oilseed rape treatments? *Chemosphere*, 188:389-396.
- Kass, M., Olt, A., Ots, M. 2021. Ohutu sööda tootmise hea tava juhend, [https://www.pikk.ee/wp-content/uploads/2021/11/Ohutu\\_sooda\\_tootmise\\_hea\\_tava\\_juhend\\_2021.pdf](https://www.pikk.ee/wp-content/uploads/2021/11/Ohutu_sooda_tootmise_hea_tava_juhend_2021.pdf)
- Kast, C., Dübecke, A., Kilchenmann, V., Bieri, K., Böhlen, M., Zoller, O., Beck, G., Lüllmann, C. 2014. Analysis of Swiss honeys for pyrrolizidine alkaloids, *J. Apic. Res.* 53:75-83.
- Lamp J., Knappstein K., Walte H.G., Krause T., Steinberg P., Schwake-Anduschus C. 2021. Transfer of tropane alkaloids (atropine and scopolamine) into the milk of subclinically exposed dairy cows. *Food Control.* 2021:126:108056.
- Li, Z., Xionga, J., Fantke, P. 2022. Screening of pesticide distributions in foods of animal origin: a matrix-based approach for biotransfer factor modelling of grazing mammals. *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 2022, 24: 609.
- Lopes, J.R.G., Riet-Correa, F., Medeiro, R.M.T. 2019. Phytotoxins eliminated by milk: A review. *Pesc. Vet. Bras.* 39:231-237.
- MacLachlan, D.J. 2011. Estimating the transfer of contaminants in animal feedstuffs to livestock tissues, milk and eggs: a review, *Anim. Prod. Sci.*, 51, 1067-1078 and Supplementary material [https://www.publish.csiro.au/AN/acc/AN11112/AN11112\\_AC.pdf](https://www.publish.csiro.au/AN/acc/AN11112/AN11112_AC.pdf)
- Mulder, P.P.J., López, P., Castelari, M., Bodi, D., Ronczka, S., Preiss-Weigert, A., These, A. 2018. Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in animal and plant-derived food: results of a survey across Europe, *Food Addit. Contam. Part A*, 35:118–133.
- Mulder, P.P.J., de Witte, S.L., Stoopen, G., van der Meulen, J., Wikselaar, P., Gruys, E., Groot M., Hoogenboom, L.A.P. 2016b. Transfer of pyrrolizidine alkaloids from various herbs to eggs and meat in laying hens. *Food Addit. Contam. Part A.* 33:1826–1839.
- Püssa, T. 2018. Meemürgid, Konverentsi „Terve loom ja tervislik toit 2018“ artiklite kogumik (toim. M. Kass). Tartu, Eesti Maaülikool, lk 38-44.
- Püssa, T. 2020. Taimede kaudu toitu jõudvatest mürkidest, Konverentsi „Terve loom ja tervislik toit 2020“ artiklite kogumik (toim. M. Kass). Tartu, Eesti Maaülikool, lk 37-47.
- Thompson, H.M., Levine, S.L., Doering, J., Norman, S., Manson, P., Sutton, P., von Mérey, G. 2014. Evaluating exposure and potential effects on honeybee brood (*Apis mellifera*) development using glyphosate as an example, *Integr. Environ. Assess. Manag.* 10:463–470.
- Vicini, J.L., Jensen, B.K., Young, B.M., Swarthout, J.T. 2021. Residues of glyphosate in food and dietary exposure, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 20:5226–5257.

### ***Transfer of toxicants contained in plants to animal foods***

*The article gives a brief overview of animal and human toxic substances that move into plants from the environment, including plant-associated microfungi, as well as plant-synthesized toxicants that are used by the plant for defence against other plants, animals and microorganisms, and also overview of the ways and extent of transferring of these substances from fodder to animal food materials (milk, eggs, meat, fat, liver, kidneys, honey).*

**Keywords:** *transfer, fodder, food, persistent organic pollutants, mycotoxins, pesticides, alkaloids*

Corresponding author: [tonu.pyssa@emu.ee](mailto:tonu.pyssa@emu.ee)

### **BIOCOAT – juustu säileaja pikendamine**

**Liis Lutter<sup>1\*</sup>, Epp Songisepp<sup>1</sup>, Agne Vasiliauskaite<sup>2</sup>, Elvidas Aleksandrovas<sup>2</sup>, Justina Mileriene<sup>2</sup>, Ida Rud<sup>3</sup>, Lars Axelsson<sup>3</sup>, Sandra Muizniece-Brasava<sup>4</sup>, Inga Ciprovica<sup>4</sup>, Mindaugas Malakauskas<sup>2</sup>, Loreta Serniene<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*BioCC OÜ*

<sup>2</sup>*Leedu Terviseteaduste Ülikool, toiduohutuse ja kvaliteedi osakond*

<sup>3</sup>*Nofima*

<sup>4</sup>*Läti Põllumajandusülikool, toidutehnoloogia teaduskond*

\*[liis.lutter@biocc.eu](mailto:liis.lutter@biocc.eu)

Mõiste “jätkusuutlik tervislik toit“ (ingl *Sustainable Healthy Diet*) viitab toitumisharjumustele ja toitudele, mis ei ole ainult tervist toetavad, kättesaadavad, taskukohased ja kultuurilisi eripärasid arvestavad, vaid on ka väikese keskkonnamõjuga (UN, 2017; FAO jt, 2019). Tarbijad on järjest enam orienteeritud tervislikule ja keskkonnasäästlikule toidule, mis survestab toidutootjaid tegelema tootmisjääkide ja kõrvalsaaduste väärindamise ning tavapärastest plastpakenditest põhjustatud keskkonnaprobleemide lahendamisega (Verain jt, 2012; Iriundo-DeHond jt, 2018). Toidutarbimise suurenemise ning rangete keskkonnavalaste regulatsioonide tõttu on toidujäätmete ja kõrvalsaaduste väärindamine toiduainetööstustele väljakutseks, kuna nende töötlemisega kaasnevad suured majanduslikud kulud.

Piimatööstused toodavad igal aastal miljoneid tonne kõrvalsaaduseid, millest põhiosa moodustab magus ja hapu vadak (Wherry jt, 2019; Pires jt, 2021). Hinnanguliselt toodetakse Euroopa Liidus üksnes haput vadakut 40 miljonit tonni aastas ning selle mahud kasvavad igal aastal tulenevalt piimatoodete tarbimise suurenemisest. See kohustab piimatööstuseid välja töötama ning kasutusele võtma innovaatilisi meetodeid hapu vadaku keskkonnasõbralikuks ja jätkusuutlikuks ümbertöötlemiseks (Zotta jt, 2020). Hapu vadaku väärindamine on selle koostise tõttu problemaatiline. Sel kõrvalsaadusel on kõrge bioloogiline hapnikutarve (31 900-62 400 mg/l), mistõttu on selle keskkonda viimine raskendatud ilma ümbertöötlemiseta (Menchik jt, 2019). Enamasti kasutatakse seda põllumajanduses loomasöödana või väetisena. Samas ei ole hapu vadaku utiliseerimine sageli majanduslikult mõistlik, eriti väikese ja keskmise suurusega toidukäitlejate puhul. Hapu vadaku kõrge piimhappesisalduse ja madala pH tõttu

on inhibeeritud laktoosi kristalliseerumine, mis raskendab vadaku kuivatamist (Bylund, 2015). Hapu vadaku töötlemisega seotud väljakutsed raskendavad selle väärindamist ning selle kõrvalsaaduse võimalike rakenduste kohta on vaja teha täiendavaid uuringuid.

Üks viis hapu vadaku vedelal kujul taaskasutamiseks on vadaku ultrafiltreerimine vedela vadakuvalgu kontsentradi tootmiseks, mida tänu kõrgele toiteväärtusele ja funktsionaalsetele omadustele saab valgurikka ja bioaktiivsete ühendite maatriksina uuesti kasutada toidutoodetes, nt söödavate kattekihtide tootmisel (Alvarez-Pérez jt, 2017). Söödavad katted põhinevad enamasti biolagunevatel ja bioaktiivsust omavatel koostisosadel, mistõttu need vastavad tarbijate nõudlusele ohutute ja tervislike toiduainete järele ning võivad mõnel juhul isegi pakkuda alternatiivi sünteetilisetele pakkematerjalidele ja antimikroobsetele lisanditele (Arnon-Rips ja Poverenov, 2018). Võimalused kombineerida toiduainete töötlemise kõrvalsaadusi erinevate bioaktiivsete ühenditega (nt pre- ja probiootikumid, taimsed ekstraktid jne) on loonud märkimisväärsel hulgal uusi arenguid kõrvalsaaduste väärindamiseks ja funktsionaalsete toitude arendamiseks (Iriundo-Dehond jt, 2018).

Toidupakenditel on oluline funktsioon toiduainete säilivusaja pikendamisel, kvaliteedi ja ohutuse säilitamisel, kuid neil võib olla negatiivne mõju keskkonnale (Lopez-Rubio jt, 2004). Sünteetilised polümeerid, nt polüvinüülkloriid, polüetüleentereftalaat, polüstüreen, polüpropüleen, polüamiid jne, on kõige laialdasemalt kasutatavad toiduainete pakkematerjalid, mis on valmistatud naftapõhistest toorainetest (Mangaraj jt, 2014; Muizniece-Brasava jt, 2019). Sünteetiliste polümeeride probleem on nende vastupidavus lagunemisele keskkonnas (Webb jt, 2013). See asjaolu ei rahulda enam keskkonnateadlikku tarbijat (Muizniece-Brasava ja Kirse, 2018; Kocetkovs jt, 2019). Biolagunevad polümeerid aitavad vähendada plasti tootmise ja töötlemise keskkonnamõju, kuna biolagunevaid polümeere valmistatakse taastuvatest lähteainetest ja põllumajandusjäätmetest. Biolagunevad polümeerid asendavad praegu vaid umbes 1% plastist. Biolagunevate polümeeride jaoks on aga praktiliste rakenduste mõttes veel mitmeid väljakutseid. Eelkõige puudub see halbu barjääriomadusi, mis piiravad oluliselt praeguste biolagunevate polümeeride kasutamist toiduainete pakendamiseks. Lisaks eeldab mis tahes toidupakendi kasutuselevõtt nõuetekohaste uuringute läbiviimist selgitamiseks välja pakendatava toidu koostisosade ja biopolümeeride koostoimet toote säileaja jooksul (Shaikha jt, 2021).

Leedu Teadusnõukogu EMP Balti teaduskoostöö programmi raames Islandi, Liechtensteini ja Norra EMP grandiga rahastatud ja 1. jaanuaril 2021 käivitunud kolmeaastase rakendusuringu „*The edible coating formulated with liquid acid*

*whey protein and bioactive compounds, and biopackaging for safety and quality of probiotic cheese*” eesmärk on välja töötada juustu säileaja pikendamiseks hapu vadaku valgukontsentradi ja bioaktiivsetel ühenditel põhinev söödav bioprotektiivne kate (ingl *biocoat*) ning kombineerida seda biolaguneva pakendiga. Projekti uudsus seisneb hapu vadaku valgukontsentradi kasutamisel kandjana bakteriotsiine tootvatele metsikut tüüpi piimhappebakteritele jm bioaktiivsetele ühenditele. Uudse tehnoloogilise lahenduse kasutusele võtmine peaks pikendama kohupiima- ja laabijuustude säileaega, panustama toiduohutusse ning andma toodetele lisandväärtust.

Projektis osaleb kokku neli partnerit: BioCC OÜ (Eesti), Leedu Terviseteaduste Ülikool (*Lithuanian University of Health Sciences*), Läti Põllumajandusülikool (*Latvian University of Life Sciences and Technologies*) ja Nofima (*The Norwegian Institute of Food, Fisheries and Aquaculture Research*).

Projekti peamisteks ülesanneteks on:

- töötada välja söödav kate, kus hapuvadaku valgukontsentradi kasutatakse bioaktiivsete ühendite kandjana (sh sisaldab endogeenseid antimikroobsete omadustega piimhappebaktereid);
- valida välja kohupiima- ja laabijuustule sobivate barjääriomadustega biolagunev pakend;
- analüüsida nii söödava bioprotektiivse katte kui ka biolaguneva pakendi kombineerimise mõju kohupiima- ja laabijuustu (sh probiootilise juustu) kvaliteedile säilimisaja jooksul;
- analüüsida katte ja juustu kontaktpinnal toimuvaid vastastikke mõjusid kattekiles olevate piimhappebakterite kaitsejuuretise ja juustu starterkultuuride ja lisajuuretise kasutatud BioCC OÜ poolt probiootikumiks välja arendatud ja patenteeritud elusa inimese organismile omase piimhappebakteri *Lactiplantibacillus plantarum* TENSIA® vahel;
- analüüsida seedetrakti mudelis uudse söödava kattega juustude mõju seedetrakti mikrobiootale.

Tänaseks edukalt kulgenud projekti jooksul on välja töötatud ja laboratoorselt katsetatud erinevatele juustutüüpidele sobilikke hapu vadaku valgukontsentradi baasil valminud söödavate katete prototüüpe. Söödava katte prototüüpides on kasutatud mitmeid antimikroobsete omadustega piimhappebakterite tüvesid, mis isoleeriti fermenteeritud toorpiimast. Koostöös pakenditootjatega on projekti töörühm välja valinud mitu võimalikku uut biolagunevat ja taaskasutatavat pakkematerjali.

Koostöös piimatööstusega AS E-Piim Tootmine testiti bioprotektiivsete katete prototüüpide laabijuustude pinnal kandmise, katete prototüüpide ja biolaguneva pakendi kombinatsioonide optimaalseid rakendusvõimalusi suurtööstuslikes tootmistingimustes. Uudseid lahendusi katsetati traditsioonilise Edam juustu tootmisel ja probiootilise juustu Harmony kui probiootilise juustu mudeliga. Katsete käigus hinnati juustude pinnale koos bioprotektiivse kattega kantud uudsete kaitsejuuretise tüvede elulemust ning erineva koostisega katete mõju juustupinna ja juustu mikrobiotale, sh Harmony juustus leiduva kodumaise probiootikumi *L. plantarum* TENSIA suhestumist projekti käigus loodud kaitsejuuretise tüvedega ja bioprotektiivsete katetega. Samuti vaadeldi muutusi juustu biokeemilises koostises, sensoorsetes ja füüsikalis-keemilistes parameetrites ning võrreldi biopakendi ja traditsioonilise juustupakendi käideldavust ja mõju kombinatsioonis bioprotektiivse katte prototüüpidega. Valmistatud juustude katsepartiiga on viidud läbi eelkatsed seedetrakti mudelisüsteemis.

Projekti tulemina on valminud kaks teadusartiklit (Vasiliauskaite jt, 2022; Vasiliauskaite jt, 2023 käsikiri eelretsenseerimisel) ning koostamisel on patenditaotlus.

## Tänuõnad

Projekt BIOCOAT on rahastatud Islandi, Liechtensteini ja Norra EMP grandiga. Leedu Teadusnõukogu projektileping (LMTLT) S-BMT-21-10 (LT08-2-LMT-K-01-046).

## Kasutatud kirjandus

- Alvarez-Pérez O. B., Rodríguez-Herrera R., Rodríguez-Jasso R. M. (2017). Whey Protein-Based Edible Films: Progress and Prospects. In *Research Methodology in Food Sciences* 1st Ed; Apple Academic Press. Chapter 12; pp 246-260.
- Aron-Rips, H., Poverenov, E. (2018). Improving food products' quality and storability by using Layer by Layer edible coatings. *Trends in Foods Science & Technology*. Vol. 75, pp 81-92.
- Bylund, G. (2015). *Dairy Processing Handbook* (3rd. ed.), Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, Sweden.
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP, WHO (2019). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2019*.
- Iriondo-DeHond, M., Miguel, E., Del Castillo, M. D. (2018). Food Byproducts as Sustainable Ingredients for Innovative and Healthy Dairy Foods. *Nutrients*, Vol. 10: 1358.
- Kocetkovs, V., Muizniece-Brasava, S., Kirse-Ozolina, A. (2019). Consumer awareness and attitudes towards active and intelligent packaging systems in the Latvian market. *FoodBalt* 2019, pp 222-226.
- Lopez-Rubio, A., Almenar, E., Hernandez-Muñoz, P., Lagarón, J. M., Catalá, R., Gavara, R. (2004). Overview of Active Polymer-Based Packaging Technologies for Food Applications. *Food Reviews International*, Vol. 20.
- Mangaraj, S., Goswami, T. K., Giri, S. K., Joshy, C. G. (2014). Design and development of a modified atmosphere packaging system for guava (*cv. Baruipur*). *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 51, pp 2925-2946.
- Menchik, P., Zuber, T., Zuber, A., Moraru, C. (2019). Short communication: Composition of coproduct streams from dairy processing: Acid whey and milk permeate. *Journal of Dairy Science*. Vol. 102, pp 3978-3984.
- Muizniece-Brasava, S., Kirse, A. (2018). Attitudes of Latvian consumers to traditional and ecofriendly food packaging materials: comparison of 2007 and 2017. In: International scientific conference "Engineering for rural development": proceedings. Conference Paper. 23.-25.05.2018, pp 1948-1954.
- Pieres, A. F., Marnotes, N. G., Rubio, O. D., Garcia, A. C., Pereira, C. D. (2021). Dairy By-Products: A Review on the Valorization of Whey and Second Cheese Whey. *Foods*, Vol. 12: 1067.
- Shaikha, S., Yaqooba, M., Aggarwal, P. (2021). An overview of biodegradable packaging in food Industry. *Current Research in Food Science*, Vol. 4, pp 503-520.
- United Nations Decade of Action on Nutrition (2016-2025) <https://www.un.org/nutrition/>
- Vasiliauskaite, A., Mileriene, J., Songisepp, E., Rud, I., Muizniece-Brasava, S., Ciprovica, I., Axelsson, L., Lutter, L., Aleksandrovas, E., Tammsaar, E., Salomskiene, J., Serniene, L., Malakauskas, M. (2022). Application of Edible Coating Based on Liquid Acid Whey Protein Concentrate with Indigenous *Lactobacillus helveticus* for Acid-Curd Cheese Quality Improvement. *Foods*. Vol. 11: 3353.
- Vasiliauskaite, A., Mileriene, J., Kasparaviciene, B., Aleksandrovas, E., Songisepp, E., Rud, I., Axelsson, L., Muizniece-Brasava, S., Ciprovica, I., Paskevicius, A., Baliukoniene, V., Lutter, L., Malakauskas, M., Serniene, L. (2023). Screening for antifungal indigenous lactobacilli strains isolated from local fermented milk for developing of bioprotective fermentates and coatings based on acid whey protein concentrate for fresh cheese quality maintenance. *Microorganisms*, submitted.
- Verain, M. C. D., Bartels, J., Dagevos, H., Sijtsema, S. J., Onwezen, M. C., Antonides, G. (2012). Segments of sustainable food consumers: a literature review. *International Journal of Consumer Studies*, Vol. 36, pp 123-132.



Webb, H. K., Arnott, J., Crawford, R. J., Ivanova, E. P. (2013). Plastic degradation and its environmental implications with special reference to poly (ethylene terephthalate). *Polymers*, Vol. 5, pp 1-18.

Wherry, B., Barbano, D. M., Drake, M. A. (2019). Use of acid whey protein concentrate as an ingredient in nonfat cup set-style yogurt. *Journal of Dairy Science*, Vol. 102, pp 8768-8784.

Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C., Gullo, M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 104, pp 2749-2764.

### **BIOCOAT - extending the shelf life of cheese**

*Consumers are increasingly oriented towards healthy and environmentally sustainable food, which puts pressure on food manufacturers to deal with the valorisation of production residues and by-products and to solve environmental problems caused by conventional plastic packaging (Verain et al., 2012; Iriondo-DeHond et al., 2018). The aim of the project BIOCOAT is to develop an edible coating formulated with liquid acid whey protein concentrate and bioactive compounds, in combination with biodegradable packaging to ensure safety, extend the shelf life and enhance functionality of acid-curd cheeses, rennet cheeses incl. probiotic cheeses.*

**Outcome of the project:** *Biocoat prototype; patented edible coating, scientific production.*

**Keywords:** *edible coating, acid whey concentrate, lactic acid bacteria, bioactive compounds*

**Corresponding author:** [liis.lutter@biocc.eu](mailto:liis.lutter@biocc.eu) (Liis Lutter)

### **Listeria monocytogenes'e kasvu pidurdamise võimalused taimsete lisanditega hakklihatoodetes**

**Mati Roasto<sup>1\*</sup>, Kadrin Meremäe<sup>1</sup>, Julia Koskar<sup>1</sup>, Terje Elias<sup>1</sup>, Reelika Rätsep<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetooli toiduhügieeni ja –ohutuse üksus

<sup>2</sup>EMÜ põllumajandus- ja keskkonna instituut, aianduse õppetool, Polli aiandusuuringute keskus

<sup>3</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, ERA õppetool VALORTECH

[\\*mati.roasto@emu.ee](mailto:*mati.roasto@emu.ee)

### **Sissejuhatus**

Listerioos on Euroopa Liidus (EL) viies kõige sagedamini registreeritud zoonoos inimestel ja üks tõsisemaid toidutekkelisi haigusi. 2021. aastal vajas EL-s 96,5% listerioosi haigestunudest haiglaravi ning 13,7% listerioosi haigusjuhtudest lõppes surmaga (EFSA, 2022). Listerioosi riskigruppi kuuluvad rasedad, vastsündinud, vanurid ja immuunpuudulikkusega inimesed. 2021. aastal teatati kõige sagedamini *L. monocytogenes*'e infektsioonidest vanuserühmades „üle 64-aastased“ ja „üle 84-aastased“ (EFSA, 2022).

Valmistoitudele<sup>1</sup> on EL-s kehtestatud toiduohutuskriteeriumid. Valmistoitudes, milles *L. monocytogenes* võib paljuneda, ei tohi patogeeni esineda 25 grammis tootes enne selle tootnud toidukäitleja vahetu kontrolli alt väljaviimist (enne toidu turustamist)<sup>2</sup>. Valmistoitudele, milles *L. monocytogenes* ei paljune, on kehtestatud arvuline kriteerium 100 pmü/g ehk kogu toidu säilimisaja vältel peab patogeeni arvukus grammi toidu kohta jääma alla 100 bakteri. Juhul, kui toidu valmistaja suudab pädevale asutusele piisavalt tõendada, et kogu säilimisaja jooksul kriteerium 100 pmü/g ei saa ületatud, kuid samas on tegemist toiduga,

1 Valmistoit on toit, mida tootja või valmistaja on kavandanud otsetarbimiseks ja mis ei vaja kuumtöötlemist või muul viisil töötlemist asjaomaste mikroorganismide tõhusaks kõrvaldamiseks või nende taseme vähendamiseks vastuvõetava piirini

2 Määrus (EÜ) nr 2073/2005

milles *L. monocytogenes* võib teatud määral paljuneda, kehtib nõue, et *L. monocytogenes*'e arvukus ühes grammis valmistoidus ei tohi ületada 100 pmü-d kogu toidu säilimisaja vältel<sup>2</sup>.

Juhul, kui toidukäitleja soovib rakendada valmistoidule, milles *L. monocytogenes* võib paljuneda, kriteeriumi 100 pmü/g, tuleb teostada nõuetekohane<sup>3</sup> nakatamiskatse. Viimane eeldab laboratoorseid analüüse, et hinnata toitu tahtlikult viidud (inokuleeritud) *L. monocytogenes*'e võimet toidus konkreetsetes säilitamistingimustes ellu jääda ja/või paljuneda (Roasto ja Laikoja, 2019).

Tingituna *L. monocytogenes*'e olulisusest valmistoitude toiduohutust mõjutava tegurina ning toidukäitlejate toiduohutuse tagamise kohustusest<sup>4</sup> on vajadus hinnata toidu sisemiste, väliste ja kaudsete tegurite mõju *L. monocytogenes*'e kasvule selles, eriti valmistoidudes, millel on pikk säilimisaeg. Valmistoitte, mille säilimisaeg on kuni 5 päeva, peetakse toitudeks, milles *L. monocytogenes* ei paljune ohtliku määran.

Käesoleva artikli eesmärgiks on anda ülevaade *L. monocytogenes*'e kasvu pärssimise võimalustest taimsete lisanditega rikastatud hakklihatoodetes.

## Materjal

Toiduproovide koostises kasutati hakkliha, mille rasvasisaldus oli 27%. Gaasikeskkonda pakendatud värske seahakkliha osteti jaemüügist ja transporditi külmakastides laborisse, kus säilitati +4 °C juures. Liha värskuse tagamiseks toimus katseseeria toiduproovide ettevalmistamine hakkliha ostmisega samal päeval.

Taimse materjalina kasutati puuviljade, marjade või köögiviljade töötlemise kõrvalsaadusi, nt mahlatootmise pressjääke v.a sibul ja küüslauk, mille puhul kasutati terveid köögivilju. Taimsed materjalid konvektsioon- või külmuivatati ja lisati hakklihale pulbrina. Pulbrid segati ühtlaselt hakklihasse ja vormiti lihapallideks.

Katsete läbiviimiseks valiti uuringusse järgmise koostisega hakklihatooted: (1) hakkliha ilma lisanditeta (kontroll); (2) hakkliha + 3% õun + 1% sibul + 2% must sõstar; (3) hakkliha + 3% õun + 1% küüslauk + 2% tomat; (4) hakkliha + 3% õun + 2% tomat + 1% rabarberi vars; (5) hakkliha + 2% küüslauk; (6) hakkliha + 2% sibul ja (7) hakkliha + 2% rabarberi vars.

3 Vastavalt standardile EVS-EN ISO 20976-1:2019 ja/või EURL Lm, 2019 tehnilisele dokumendile

4 Määrus (EÜ) nr 178/2002

Hakklihatooted küpsetati sisetemperatuurini 75 °C ja pakendati jahutatult. Proovid jagati analüüsipäevade ning uuritavate näitajate järgi keeratava kaanega silindrilistesse steriilsetesse plastiktopsidesse ning säilitati temperatuuril +4 °C.

Nakatamiskatse viidi läbi *L. monocytogenes*'e referenttüvedega 12MOB045LM ja 12MOB089LM, mis hangiti Veterinaar- ja Toidulaboratooriumist (alates 2013. aastast Riigi Laboriuuringute ja Riskihindamise Keskus), mis on *L. monocytogenes*'e referentlaboratoorium Eestis.

## Metoodika

Taimsete lisanditega hakklihatoodete nakatamiskatsed teostati EMÜ VLI veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetooli toiduhügieeni ja -ohutuse üksuse laborites. Analüüsid teostati vastavalt Euroopa Liidu *L. monocytogenes*'e referentlaboratooriumi tehnilisele juhenddokumendile (EURL Lm, 2021) ja EVS-EN ISO 20976-1:2019 standardile, kus on esitatud juhendid ja/või nõuded *L. monocytogenes*'e suhtes kestvuskatsete, k.a nakatamiskatsete läbiviimiseks.

Nakatamiskatsete raames määrati standardis EVS-EN ISO 4833-2:2013 kirjeldatud metoodikale vastavalt ka aeroobsete mesofiilsete mikroobide arv. Mikroorganismide loendamiseks kasutati *Plate Count Agar* (PCA, LAB010, Lab M, Lancashire, UK) söödet. Samuti määrati toiduproovide pH ja veeaktiivsus. pH-d mõõdeti toatemperatuuril pH-meetriga (SI Analytics, HandyLab680). Veeaktiivsust määrati temperatuuril 25 °C, kasutades veeaktiivsuse määramise seadet (Aqualab, Decagon 3TE, Decagon Devices Inc., Pullman, USA). Analüüsid teostati 0., 6. ja 12. päeval, kus 0 päev on ka toiduproovide (hakklihatoodete) valmistamise päev.

## Tulemused ja arutelu

Erinevate taimsete lisandite mõju hakklihatoodete füüsikalise-keemilistele ja mikrobioloogilistele näitajatele on esitatud tabelis 1. Tulemustest selgus, et mesofiilsete aeroobsete mikroorganismide arvukus küpsetatud hakklihatoodetes oli madal ning varieerus vahemikus 1,00–3,16 log pmü/g<sup>5</sup>. Kõrgeim mikroorganismide arvukus määrati kontrollproovis, kus algselt oli mikroobide arv 1,93 log pmü/g, ja 12. päevaks tõusis see näitaja kuni 3,16 log pmü/g. Kõige madalamad mikroorganismide kontsentratsioonid olid hakklihatoodetes, mis sisaldasid 2% rabarberivarre pulbrit või 2% sibula pulbrit. Eelmainitud proovides jäi mesofiilsete mikroorganismide arv kogu säilitamisperioodi jooksul

5 Selgituseks: 1,00 log pmü/g on 10 bakterit grammis toidus; 2,00 log/ pmü/g on 100 bakterit grammis toidus; 3,00 log/pmü/g on 1000 bakterit grammis toidus.

alla 1,55 log pmü/g. Aeroobsete mesofiilsete mikroorganismide arvu määramist kasutatakse toidu mikrobioloogilise kvaliteedi hindamiseks, kusjuures piirväärtused sõltuvad toidu kategooriast ning ei ole ühtmoodi rakendatavad sama toidugrupi erineval viisil valmistatud ja pakendatud toodetele (Roasto ja Laikoja, 2020). Mikrobioloogiliselt riknenud toidus on aeroobsete mesofiilsete mikroorganismide arvukus reeglina üle 6,00 log pmü/g, kuid säilimisaja määramisel tuleb lisaks mikrobioloogilistele näitajatele arvesse võtta ka toidu sensorsete analüüside tulemusi. Antud uurimuses jäid aeroobsete mesofiilsete mikroorganismide arvukused kogu katseseeria jooksul kõikides proovides madalaks, mistõttu saab väita, et toiduproovide mikrobioloogiline kvaliteet oli väga kõrge ka tinglikult kehtestatud toidu säilimisaja lõpus (12. päev). Uurimuse põhieesmärgiks oli hinnata *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaali erineva koostisega hakklihatoodetes, mistõttu paralleelselt mikroobide üldarvu määramisele teostati valimisse kuulunud toiduproovidega nakatamiskatsed. Nakatamiskatsete tulemusena leiti, et *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaal kõikides toiduproovides oli suurem kui 0,5 log<sub>10</sub> pmü/g. Sellest saab järeldada, et kontrollproov ja taimsete lisanditega rikastatud hakklihatooted toetasid *L. monocytogenes*'e kasvu. Erineva koostisega hakklihatoodetes oli *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaal erinev (tabel 1). Kõrgeim kasvupotentsiaal määrati ilma taimsete lisanditeta hakklihatoote proovis ( $\delta=8,00$  log pmü/g), millele järgnesid hakkliha + 2% sibula ( $\delta=7,92$  log pmü/g) ja hakkliha + 2% küüslaugu ( $\delta=7,85$  log pmü/g) proovid. Neid proove iseloomustas ka kõrgem pH (vahemikus 6,58–6,72), samal ajal kui teistes hakklihatoodetes jäi pH alla 6,00.

*L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaal oli kõige madalam ( $\delta=2,74$  log pmü/g) proovis, kus hakklihale oli lisatud 2% rabarberivarre pulbrit. Sellele järgnesid hakkliha + 3% õuna + 1% sibula + 2% musta sõstra ( $\delta=3,63$  log pmü/g) ja hakkliha + 3% õuna + 2% tomati + 1% rabarberivarre ( $\delta=3,74$  log pmü/g) proovid. Neid proove iseloomustas ka madalam pH. Hakkliha + 2% rabarberivarre proovis oli pH 5,2–5,4 ning teistes toodetes, kus *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaal oli madalam, jäi pH vahemikku 5,5–5,8.

**Tabel 1.** Erineva koostisega hakklihatoodete füüsikalise-keemilised ja mikrobioloogilised näitajad (Koskar jt, 2022)

Proovid	Päev	pH	Vee-aktiivsus	MO üldarv (log pmü/g)	LM üldarv (log pmü/g)	$\delta$ (log <sub>10</sub> pmü/g)
Hakkliha (kontroll)	0	6,66	0,991	1,93	2,00	8,00
	6	6,68	0,990	2,16	6,00	
	12	6,63	0,989	3,16	10,0	
Hakkliha + 3% õun + 1% sibul + 2% must sõstar	0	5,75	0,987	< 2,00	2,27	3,63
	6	5,70	0,985	< 2,00	3,41	
	12	5,72	0,984	2,00	5,58	
Hakkliha + 3% õun + 1% küüslauk + 2% tomat	0	5,93	0,986	< 2,00	0,53	5,35
	6	5,87	0,990	2,00	3,94	
	12	5,95	0,979	2,30	6,37	
Hakkliha + 3% õun + 2% tomat + 1% rabarberi vars	0	5,51	0,988	< 2,00	1,96	3,74
	6	5,42	0,987	< 2,00	3,00	
	12	5,48	0,977	2,18	5,60	
Hakkliha + 2% küüslauk	0	6,68	0,986	1,18	2,12	7,85
	6	6,73	0,990	1,74	6,00	
	12	6,72	0,987	2,00	10,00	
Hakkliha + 2% sibul	0	6,48	0,986	1,30	2,13	7,92
	6	6,58	0,984	1,55	6,00	
	12	6,60	0,979	1,48	9,67	
Hakkliha + 2% rabarberi vars	0	5,24	0,980	1,00	2,00	2,74
	6	5,31	0,987	1,54	4,26	
	12	5,41	0,979	1,00	4,47	

MO, mesofiilsed aeroobsed mikroorganismid

LM, *Listeria monocytogenes*

$\delta$ , kasvupotentsiaal

Veeaktiivsuse ( $a_w$ ) väärtused jäid vahemikku 0,977–0,991, olles kõrgemad kontrollproovis (0,989–0,991) ja madalamad 2% sibula (0,979–0,986) ja 2% rabarberi varrega ( $a_w$  0,979–0,987) rikastatud hakklihatoodetes.

Käesolevas uurimuses kasutati hakklihatoodete koostises erinevaid puu- ja köögiviljade pulbreid ja nende segusid. *L. monocytogenes*'e kasv oli kõige rohkem pidurdatud hakklihatootes, kuhu oli lisatud 2% rabarberivarre pulbrit. Rabarberi toimet saab osaliselt põhjendada ka segu madala pH väärtusega, mis

säilimisaja jooksul langeb, samuti oblikhappe raua ioone kelateeriva toimega (Püssa jt, 2022). Rabarberi antibakteriaalset toimet on tõestatud ka varasemate uuringutega (Kosikowska jt, 2010; Raudsepp jt, 2013). Rabarberi (*Rheum rhaponticum* L.) varred sisaldavad fenoolhappeid, katehhiine, antotsüaniine, flavonoole, orgaanilisi happeid ning võivad sisaldada ka suures koguses nitraadi- ja nitritiioone (Colla jt, 2018). Seega sisaldab rabarber mitmeid ühendeid, mis pidurdavad mikroobide, k.a patogeene kasvu, mis selgus ka antud uuringus.

Nakatamiskatsete tulemuste põhjal võib esile tuua ka hakklihatoote, kuhu oli lisatud 3% õuna, 1% sibulat ja 2% musta sõstart. Antud proovis jäi *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaal kordades madalamaks kui kontrollproovis (taimsete lisanditeta hakklihatoode). Musta sõstra viljad (*Ribes nigrum* L.) on tuntud oma suure C-vitamiini, fenoolhapete, antotsüaniinide ja teiste flavonoidide sisalduse poolest (Raudsepp jt, 2010; Kikas jt, 2020) ning on näidanud head antioksüdantset ja antimikroobset toimet nii *in vitro* kui ka toidukatsetes (Paunović jt, 2017). Samuti on kõnealuste kultuuride mahlapressjäägid näidanud häid antioksüdantseid omadusi (Rätsep jt, 2022).

Kontrollproovi ja taimsete lisanditega toiduproovide tulemuste võrdlemine näitas, et taimepulbritel on *L. monocytogenes*'e kasvule inhibeeriv mõju, eriti õuna-, rabarberi-, tomati-, sibula-, küüslaugu- ja musta sõstra segudel. Mitme erineva taimse pulbri kombineeritud kasutamine hakklihatoodes osutus *L. monocytogenes*'e kasvu pärssimisel tõhusamaks võrreldes proovidega, mis sisaldasid ainult ühe taime pulbrit (v.a rabarber) või ei sisaldanud taimseid lisandeid üldse (kontroll). *L. monocytogenes*'e kõrge kasvupotentsiaal üksnes sibula ja küüslauguga rikastatud hakklihatoodes oli üllatuseks, sest varasematest uuringutest on teada, et erinevatel taimeekstraktidel, mis sisaldavad rohkesti väevliühendeid ja fenooli, on head antimikroobsed omadused erinevate mikroorganismide, sealhulgas patogeene kasvu suhtes (Ortiz, 2015; Liaqat jt, 2019). Osaliselt saab seda põhjendada proovide pH-ga, mis nii 2% sibula kui ka 2% küüslaugu pulbriga rikastatud hakklihatoodes oli >6,5. *L. monocytogenes*'e kasvu pärssimisel omab pH suurt mõju, nt on teada, et patogeeni kasv ei ole võimalik<sup>6</sup> toitudes, mille pH on ≤4,4. Samuti pole *L. monocytogenes*'e kasv võimalik kui toidu veeaktiivsus on ≤0,94 ja pH ≤5,0.

Arvame, et patogeene kasvu pärssimiseks võiks lihatoodes kasutada erinevate taimsete pulbrite segusid, sest erinevate taimede koostises on erinevad (k.a erinevas koguses) antimikroobsed ühendid, mis omavad erinevaid toimemehhanisme, mistõttu võib nende koostoime olla efektiivsem.

6 Määrus (EÜ) nr 2073/2005

Antud uuringu tulemuste põhjal saame väita, et kasutatud taimede pulbrid ja nende segud omasid antimikroobset toimet, kuid see ei olnud piisav, et peatada *L. monocytogenes*'e kasv täielikult. Ravichandran jt (2011) näitasid, et taimedes esinevatel fenoolsetel ühenditel on antibakteriaalne toime nii *L. monocytogenes*'e kui ka teiste patogeensete mikroorganismide suhtes. Ka käesoleva uuringu tulemused kinnitavad seda, kuid vaja on leida efektiivsemaid lisandeid või nende kombinatsioone ja/või kasutada kõrgemaid lisandite kontsentratsioone.

## Kokkuvõte

*L. monocytogenes* võib kasvada erinevates valmistootides, sh küpsetatud hakklihatoodes. Nakatamiskatse tulemusena saame järeldada, et *L. monocytogenes*'e kasv ei olnud hakklihatoode säilitamisel  $7 \pm 1$  °C juures säilimisaja jooksul piisavalt pidurdatud. *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaal oli  $>0,5 \log_{10}$  pmü/g, mis näitab, et taimsete lisanditega rikastatud hakklihatoode toetavad *L. monocytogenes*'e kasvu. Siiski oli patogeeni kasv erinevates proovides erinev. Kõige madalam *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaal ning ka väiksem mesofiilsete bakterite arv oli hakklihatootes, kuhu oli lisatud 2% rabarberivarre pulbrit. Leidsime, et mõnedel taimsetel pulbritel on mikroobide kasvu pidurdavad omadused. Uurimuse tulemuste põhjal saab järeldada, et *L. monocytogenes*'e kasvu täielikuks pidurdamiseks on lisaks taimsetele lisanditele ja madalale säilitamistemperatuurile vaja rakendada ka teisi sisemisi, väliseid ja kaudseid toidus mikroobide kasvu pärssivaid tegureid, nt valmistoodete vaakumisse või gaasikeskkonda pakendamine, orgaaniliste hapete ja soola lisamine. Uute katseseeriade eesmärgiks on leida retsept ja säilitamistingimused, kus tervisele kasulike taimsete pulbrite lisamine liha- ja kalatoodetesse võimaldab peatada *L. monocytogenes*'e kasvu ja tagab piisavalt pika toidu säilimisaja, seejuures kasutades toidu koostises minimaalselt toidu lisaaineid.

## Tänuõnad

Uurimustööd on finantseerinud Eesti Teadusagentuur (PRG1441).

Projekti TAIMLOOMTOIT (F200143PKPA) elluviimist toetavad Euroopa Regionaalarengu Fond ja Eesti Teadusagentuur läbi „Ressursside väärimise alase TA-tegevuse toetamise” programmi ResTA14.



## Kasutatud kirjandus

- Colla, G., Kim, H.-J., Kyriacou, M.C., Roupael, Y. 2018. Nitrate in fruits and vegetables. *Sci. Hortic.*, 237, 221–238.
- EVS-EN ISO 20976-1:2019 Microbiology of the food chain – Requirements and guidelines for conducting challenge tests of food and feed products – Part 1: Challenge tests to study growth potential, lag time and maximum growth rate. Eesti Standardamis- ja Akrediteerimiskeskus.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2022. The European Union one health 2021 zoonoses report. *EFSA Journal*, 2022; 20(12): 7666, doi: 10.2903/j.efsa.2022.7666. Allikat kasutatud 17.12.2022.
- EVS-EN ISO 4833-2:2013. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 2: Colony count at 30 degrees by the surface plating technique (ISO 4833-2:2013). Eesti Standardamis- ja Akrediteerimiskeskus.
- EURL Lm, European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*. 2021. EURL Lm Technical Guidance Document on Challenge Tests and Durability Studies for Assessing Shelf-Life of Ready-to-Eat Foods Related to *Listeria monocytogenes*, Version 4 of 1 July 2021. ANSES Laboratory for Food Safety. 2021. [https://food.ec.europa.eu/system/files/2021-07/biosafety\\_fh\\_mc\\_tech-guide-doc\\_listeria-in-rte-foods\\_en\\_0.pdf](https://food.ec.europa.eu/system/files/2021-07/biosafety_fh_mc_tech-guide-doc_listeria-in-rte-foods_en_0.pdf). Allikat kasutatud 21.12.2022.
- Kikas, A., Rätsep, R., Kaldmäe, H., Aluvee, A., Libek, A. V. 2020. Comparison of polyphenols and anthocyanin content of different blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) cultivars at the Polli Horticultural Research Centre in Estonia. *Agronomy Research*, 18(S4), 2715-2726. <https://doi.org/10.15159/ar.20.208>
- Kosikowska, U., Smolarz, H.D., Malm, A. 2010. Antimicrobial activity and total content of polyphenols of *Rheum* L. species growing in Poland. *Cent. Eur. J. Biol.* 5, 814-820. <https://doi.org/10.2478/s11535-010-0067-4>.
- Koskar, J., Meremäe, K., Püssa, T., Anton, D., Elias, T., Rätsep, R., Mäesaar, M., Kapp, K., Roasto, M. 2022. Microbial Growth Dynamics in Minced Meat Enriched with Plant Powders. *Appl. Sci.* 12(21), 11292; <https://doi.org/10.3390/app122111292>.
- Liaqat, A., Zahoor, T., Randhawa, M.A., Shahid, M. 2019. Characterization and antimicrobial potential of bioactive components of sonicated extract from garlic (*Allium sativum*) against foodborne pathogens. *J. Food Process. Preserv.*, 43, e13936. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13936>.
- Ortiz, M. 2015. Antimicrobial activity of onion and ginger against two food borne pathogens *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *MOJ Food Process. Technol.*, 1, 104–112. <https://doi.org/10.15406/mojft.2015.01.00021>.
- Paunović, S.M., Mašković, P., Nikolić, M., Miletić, R. 2017. Bioactive compounds and antimicrobial activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) berries and leaves extract obtained by different soil management system. *Sci. Hortic.*, 222, 69-75. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.05.015>.
- Püssa, T., Anton, D., Rusalepp, L., Meremäe, K., Roasto, M., Kaldmäe, H., Bleive, U., Rätsep, R. 2022. Hakklihatoodete riknemise pidurdamine taimsete tootmisjääkidega. *Terve Loom ja Tervislik Toit 2022*. Eesti Maaülikool, Vali Press OÜ, ISBN 2674-5011. lk. 55–70.
- Raudsepp, P., Kaldmäe, H., Kikas, A., Libek, A.-V., Püssa, T. 2010. Nutritional quality of berries and bioactive compounds in the leaves of black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars evaluated in Estonia. *J. Berry Res.*, 1, 53-59. <https://doi.org/10.3233/BR-2010-006>.
- Raudsepp, P., Anton, D., Roasto, M., Meremäe, K., Pedastsaar, P., Mäesaar, M., Raal, A., Laikoja, K., Püssa, T. 2013. The antioxidative and antimicrobial properties of the blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.), Siberian rhubarb (*Rheum rhaponticum* L.) and some other plants, compared to ascorbic acid and sodium nitrite. *Food Control*, 31, 129-135. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.10.007>.
- Ravichandran, M., Hettiarachchy, N.S., Ganesh, V., Ricke, S., Singh, S. 2011. Enhancement of antimicrobial activities of naturally occurring phenolic compounds by nanoscale delivery against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in broth and chicken meat system. *J. Food Saf.*, 31, 462-471. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2011.00322.x>.
- Roasto, M., Laikoja, K. 2019. Toidu säilimisaja määramine, I osa (täiendatud ja parandatud väljaanne). Eesti Maaülikooli toiduhügieeni ja rahvatervise õppetool. 44 lk. ISBN 978-9949-698-73-8.
- Roasto, M., Laikoja, K. 2020. Toidu säilimisaja määramine, II osa (täiendatud ja parandatud väljaanne). Mikrobioloogilised näitajad toidugruppide kohta. Eesti Maaülikooli toiduhügieeni ja rahvatervise õppetool. 42 lk. ISBN 978-9949-698-52-3.
- Rätsep, R.; Kaldmäe, H.; Bleive, U.; Sarv, V.; Anton, D.; Püssa, T.; Roasto, M.; Venskutonis, P. R. 2022. Mahlapressimisjääkidest valmistatud pulbrite bioaktiivne potentsiaal. *Terve Loom ja Tervislik Toit 2022*, Eesti Maaülikool, Vali Press OÜ, ISBN 2674-5011. lk. 30–39.

### ***L. monocytogenes* growth inhibition possibilities in ready-to-eat minced meat products by using plant additives**

*This article provides an overview of the study, which aimed to assess the L. monocytogenes growth inhibition in ready-to-eat minced meat products enriched with fruit and vegetable additives. Challenge tests revealed that in all samples, the growth potential of L. monocytogenes was > 0.5 log<sub>10</sub> cfu/g, which indicates that ready-to-eat minced meat products enriched with plant additives support the growth of L. monocytogenes. However, the growth of L. monocytogenes in different samples was different. The biggest growth ( $\delta=8.00$  log cfu/g) was determined in minced meat sample without any additive (the control). The lowest growth ( $\delta=2.74$  log cfu/g) was in a minced meat product enriched with 2% rhubarb powder. We can conclude that some plant powders have antimicrobial properties, but for total inhibition of the growth of L. monocytogenes there is a need to use the combination of plant additives with other intrinsic, extrinsic and/or implicit microbial growth inhibiting factors in food.*

**Keywords:** *by-product extracts, plant powders, challenge test, Listeria monocytogenes, growth potential*

Corresponding author: [mati.roasto@emu.ee](mailto:mati.roasto@emu.ee)

### **Patogeenidega saastumise algpõhjuste analüüs**

**Mihkel Mäesaar\*, Mati Roasto**

*EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetool*

\*[mihkel.maesaar@emu.ee](mailto:mihkel.maesaar@emu.ee)

#### **Sissejuhatus**

Algpõhjuste (ingl *root cause*) analüüs töötati välja 1990. aastatel ja kasutati esmalt autotööstuses eesmärgiga tuvastada analüüsitava probleemi alg- ehk juurpõhjusteid (Ohno, 2006; Pardo, 2018). Algpõhjuste analüüs on leidnud laialdast kasutust erinevates tööstusharudes, sealhulgas toiduainetetööstuses, kus algpõhjuste analüüsi kui riskijuhtimise vahendit kasutatakse toiduohutuse riskide tuvastamisel ning kõrvaldamisel pärast toidu või tootmiskeskonna proovidest patogeenide tuvastamist (MoH, 2007; TPCT, 2020).

#### **Algpõhjuste analüüs**

Algpõhjuste analüüsi teostamiseks kasutatakse tagasivaatavaid ehk retrospektiivseid uurimisvahendeid, et süsteemselt tuvastada kriitilise intsidendi põhjustanud algallikad, need kõrvaldada ning vältida juhtumi kordumist tulevikus ehk leida intsidendi süsteemitasandi põhjused (Firestone jt, 2018; Piltch-Loeb jt, 2018; TPCT, 2020). Üldjuhul toimub intsident algpõhjuste (miks asjad valesti läksid) ning füüsikaliste, bioloogiliste, käitumuslike ning suhtumisega seotud soodustavate tegurite (mis asjad valesti läksid) koosmõjul (Firestone jt., 2018; TPCT, 2020).

Algpõhjuste analüüsi läbiviimine on oluline juhul, kui mingi meile tundmatu tegur mõjutab toote kvaliteeti ja/või ohutust või kui toidust/tootmiskeskonnast tuvastatakse patogeene, mis on otseseks ohuks rahvatervisele. Valmisolek algpõhjuste analüüsi teostamiseks, mis hõlmab protseduurireeglite ja juhendmaterjalide koostamist, töötajate pädevuste kaardistamist ning koolitust, peab olema tagatud enne esimeste kriitiliste intsidentide juhtumist (TPCT, 2020). Algpõhjuste analüüsi meeskonda peavad kuuluma töötajad, kes omavad täielikku ülevaadet ettevõtte tootmise protsessidest ning juhtimisest (Firestone jt, 2018). Esimene ülesanne on moodustada töörühm, kes otsustab algpõhjuste analüüsi läbiviimise vajaduse, ajakava ja tarvilikkuse üle kaasata protsessi teadus- ja

arendusasutusi. Töörühma võivad kuuluda ettevõtte kvaliteedispetsialistid ja juhtkonna esindajad ning vajadusel mikrobioloogid, epidemioloogid ja toiduteadlased.

### Algpõhjuste analüüsi etapid

Toiduainetööstuses eelneb algpõhjuste analüüsi läbiviimisele kaks olulist sammu: (1) saastunud toidu turult eemaldamine ning (2) meeskonna moodustamine, kuhu liikmed valitakse vastavalt toimunud intsidendi iseloomule (TPCT, 2020).

Erinevates kirjandusallikates toodud etappide jaotumine on väga varieeruv nii nimetustes kui ka etappide arvus, kuid üldiselt jaotatakse need kuueks (TPCT, 2020; WG, 2021; FSA, 2022):

- 1) Intsidendi määratlemine ja andmete kogumine – mis juhtus?
- 2) Esialgse informatsiooni analüüs ja hüpoteesi püstitus – mis võis valesi minna?
- 3) **Tõendite kategoriseerimine – mis võis intsidendi põhjustada?**
- 4) Algpõhjuste identifitseerimine – mis intsidendi põhjustas?
- 5) Ennetus- ja parandusmeetmete ning -strateegiade määratlemine ja rakendamine – mida teha, et intsident ei korduks?
- 6) **Tõhususe analüüs ning kommunikatsioon** – kas intsident on kordunud?

### Valik algpõhjuste analüüsi meetodeid

Ajurünnak (brainstorming) on meetod, mille aluseks on ideede korje, mis aitab leida algpõhjuseid ning soodustavaid tegureid, et kindlaks teha analüüsi ulatus (Duphily, 2014; Anonüümne, 2018; TPCT, 2020).

Viis miksi (five whys) on meetod, kus algpõhjus tuvastatakse läbi küsimuse „miks?“, seda jätkatakse nii kaua, kui on jõutud süsteemitasandi algpõhjuseni (Duphily, 2014; TPCT, 2020).

Kalaluu (fishbone) on meetod, mille korral koostatakse põhjus-tagajärg ehk Ishikawa diagramm, millel võimalikud algpõhjused jagatakse gruppidesse (inimesed, keskkond, meetodid, seadmed ja materjalid) (Duphily, 2014; FSA, 2022) kahel pool horisontaalset joont, mis tähistab mittesoovitud sündmust, moodustades justkui kalaluu meenutava diagrammi. Sellelt diagrammilt on võimalik meeskonnal leida kõige olulisemad põhjused, miks intsident võis aset leida.

### Kokkuvõte

Ajakohane, süstemaatiline, erapooletu ja objektiivsel tõendusmaterjalil põhinev ning dokumenteeritud algpõhjuste analüüs aitab ettevõttel leida toidukäitlemise kitsaskohti, rakendada parandusmeetmeid ning vältida tulevasi intsidente.

Patogeenidega saastumise algpõhjuste analüüsiga seonduvaga on võimalik põhjalikumalt tutvuda Mäesaar ja Roasto (2022) juhendmaterjali abil.

### Kasutatud kirjandus

Anonüümne. 2018. Example: Root cause analysis methods. <https://research.unc.edu/wp-content/uploads/sites/61/2018/02/examples-of-root-cause-analysis.pdf>

Duphily, R. J. 2014. Root cause investigation best practices guide. <https://www.google.com/>

## Biotehnoloogilised meetodid FODMAP-ide sisalduse vähendamiseks tera- ja kaunviljades

Liis Lutter\*, Helena Andreson, Ivi Jõudu

*EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool*

[\\*liis.lutter@emu.ee](mailto:liis.lutter@emu.ee)

### Sissejuhatus

Viimastel aastatel on nii teadusuuringutes kui ka ülemaailmsel toiduturul üha enam pälvinud tähelepanu süsivesikud, mida tuntakse akronüümi FODMAP all. FODMAP-id põhjustavad funktsionaalsete seedetrakti häiretega, eriti ärritunud soole sündroomiga (IBS) inimestel, raskeid ja valulikke sümptomeid seedetraktis (Gibson ja Shepherd, 2005). IBS on krooniline funktsionaalne seedetrakti häire, mille levimus Euroopa elanikkonna hulgas on kuni 12% ning kogu maailmas 7-15%. IBS sümptomid ning mõju patsiendi heaolule ja elukvaliteedile varieerub indiviiditi. (Tuck jt, 2014) FODMAP-ide all mõistetakse toidus esinevaid süsivesikuid (oligo-, di- ja monosahhariidid, polüoolid), mida inimese peensooles ei seedita ning mis transporditakse jämesoolde, kus need käärsoolebakterite poolt lõhustatakse lühikese ahelaga rasvhapeteks ja gaasideks. Enim leidub FODMAP-e kaun-, tera- ja puuviljades, mistõttu seedetrakti häiretega inimesed väldivad sageli nende toiduainete tarbimist, samas kui osa neist süsivesikutest (nt fruktaanid,  $\alpha$ -galakto-oligosahhariidid) klassifitseeruvad kiudaineteks, mille tervist toetavad omadused on üldtuntud (Makki jt, 2018).

Ensüümid, mis lõhustavad FODMAP-e, nagu laktaas ja  $\alpha$ -galaktosidaas, on saadaval toidulisanditena, mis on aga kallid ning seedetrakti tingimused (nt madal pH, toimeaeg) ei pruugi piisavalt kõrgete hüdroolüüsitasete saavutamiseks olla optimaalsed. Alternatiiviks on FODMAP-ide sisalduse vähendamine toiduainetes. Mitmed uuringud on näidanud, et madala FODMAP-ide sisaldusega toiduainete tarbimine leevendab sümptomeid ligikaudu 70% IBS patsientidel (Tuck jt, 2014; Marsh jt, 2016). Alandatud FODMAP-ide sisaldusega tooteid saab toota kas madala FODMAP-sisaldusega toorainete kasutamisel, füüsikaliste (nt membraanfiltratsioon, keetmine) ja/või biotehnoloogiliste meetodite abil (Nyyssölä jt, 2020; Ispiryan jt, 2021).

Taimsete toiduainete, mis on enamike FODMAP-ide allikaks, osakaal inimeste

toidulaua on viimastel aastatel suurenenud, mistõttu on toidu FODMAP-ide vähendamisevõimaluste uurimine aktuaalne. Käesolev ülevaade tutvustab biotehnoloogilisi meetodeid FODMAP-ide eemaldamiseks või sisalduse vähendamiseks tera- ja kaunviljades. Põhiliselt keskendutakse fruktaani ja  $\alpha$ -galakto-oligosahhariidide (GOS) vähendamisele või eemaldamisele fermentatiivsete ja ensümaatiliste protsessidega ning endogeensete ensüümide aktiveerimisega idandamise teel.

### FODMAP

Fermenteeritavad oligo-, di- ja monosahhariidid ning polüoolid (FODMAP) on heterogeenne rühm hästi fermenteeritavatest, kuid halvasti imenduvatest lühikese ahelaga süsivesikutest. Akronüümi FODMAP võtsid 2005. aastal esmakordselt kasutusele Monashi ülikooli teadlased Gibson ja Shepherd, kes viitasid oma uurimistöös seosele lääneliku elustiili, FODMAP rikka toidu tarbimise ja Crohni tõve (krooniline põletikuline soolehaigus) vahel. FODMAP-id võivad esile kutsuda või süvendada IBS-i sümptomeid kahe peamise mehhanismi kaudu: 1) madala molekulmassiga FODMAP-idel (nagu fruktoos) on soolestiku luumenis osmootne aktiivsus ja nad tõmbavad vett peensoolde, põhjustades sellega puhitust, turset ning kõhulahtisust (Gibson ja Shepherd, 2010); 2) soolestiku bakterid fermenteerivad kiiresti FODMAP-e, nt fruktooligosahhariide (FOS) ning vabastavad lühikese ahelaga rasvhappeid ja gaase, nagu süsinikdioksiid, vesinik ja metaan, mis laiendavad käärsoolt ning põhjustavad krampe, turset ja ebamugavustunnet (De Giorgio jt, 2016). Inimese seedetrakti mikrobiota väga individuaalse olemuse tõttu võib sümptomite esinemine ja raskusaste indiviiditi suuresti erineda. Näiteks 60% patsientidest, kel on diagnoositud fruktoositalumatus, on täheldatud ka IBS sümptomeid (Latulippe ja Skoog, 2011). IBS-i ei saa ravida, kuid FODMAP-ide tarbimise piiramine vähendab haigussümptomeid – igal FODMAP-i alarühmal on erinev seedetrakti reaktsioon, mis sõltub süsivesiku molekulmassist, imendumise kiirusest ja osmolaarsusest (Murray jt, 2014).

FODMAP-id on inimeste toidumenüüs laialt levinud ja need hõlmavad nt fruktoosi, laktoosi, fruktaane, galaktaane ja polüoolide (Gibson ja Shepherd, 2010). Tabelis 1 on toodud peamised FODMAP-ide allikad ja maksimaalsed piirväärtused, mille puhul IBS-i põdevatel inimestel haigussümptomeid ei esine. Algsed madala FODMAP toitumise kirjeldused, mille pakkusid välja Shepherd ja Gibson (2006), põhinesid kliinilistel vaatlustel tuvastatud piirväärtustel. Selle alusel klassifitseeriti IBS sümptomite põhjustajateks toidud ja joogid, mis sisaldavad rohkem kui 0,5 g/100 g fruktoosi ülejääki glükoosi kohta ning sõltumata glükoosi tarbimisest enam kui 3 g fruktoosi keskmises



tarbimisportsjonis (Gibson ja Shepherd, 2005; 2010). Varney jt (2017) uuringus toodi mitmete toitumisuuringute põhjal fruktaanide piirväärtusena 0,3 g portsjoni kohta ja fruktoosi ülejäägi puhul 0,15 g portsjoni kohta.

**Tabel 1.** FODMAP-ide klassifikatsioon ja neile vastavad piirväärtused (Gibson jt, 2015; Varney jt, 2017).

FODMAP	FODMAP-i näide	Piirväärtused (g/portsjon)
Oligosahhariidid	FOS (frukto-oligosahhariidid), GOS ( $\alpha$ -galakto-oligosahhariidid)	<0,30 (täisteraviljatooted, kaunviljad, pähklid, seemned) <0,20 (puu- ja köögiviljad ja muud toiduained)
Disahhariidid	Laktoos	<1,0
Monosahhariidid	Fruktoosi ülejääk glükoosi kohta	<0,15 <0,40 (puuviljades kus see on ainus esinev FODMAP)
Polüoolid	Mannitool, sorbitool, ksülitool	<0,20 (mannitool, sorbitool) <0,40 (polüoolide üldsisaldus)

Oligosahhariidid on peamised toiduga tarbitavad FODMAP-id, kuna teraviljad ja kaunviljad sisaldavad suures kontsentratsioonis kas FOS-i või GOS-i, mis on kaks kõige levinumat oligosahhariidi (Varney jt, 2017; Ispiryan jt, 2020). Köögiviljad nagu maapirn ja küüslauk (> 10 g/100 g fruktaane), aga ka puuviljad nt pirn, õun ja arbuus (2-9 g üleliigset fruktoosi 100 g kohta) sisaldavad rohkelt FODMAP-e (Muir jt, 2007). Seevastu teraviljades ja teraviljapõhistes toodetes on FODMAP-i sisaldus oluliselt madalam, kuid nende sagedane tarbimine muudab need potentsiaalselt oluliseks FODMAP-ide allikaks (Biesiekierski jt, 2011). Fruktaani akumulatsioonid teraviljades on nisu, rukis ja oder (Gélinas jt, 2016; Ispiryan jt, 2020). Sõltuvalt teraviljasordist võib selles fruktaanide sisaldus varieeruda vahemikus 1-5%, millest oluline osa säilitatakse teraviljade välimistes kihtides (Ispiryan jt, 2020). Seetõttu sisaldavad täisterajahudest valmistatud tooted kõrgemas kontsentratsioonis FODMAP-e (Varney jt, 2017; Ispiryan jt, 2020). Näiteks on talinisu tervetes tuumades, mis on põhiline nisuleiva valmistamisel kasutatav teravili, tuvastatud fruktaane 0,7-2,9% kuivaine kohta. Madala mineraalainete sisaldusega jahudes varieerub fruktaanide sisaldus keskmiselt vahemikus 1,4-1,7% kuivaine kohta. Fruktaanide sisalduse erinevusest tervete tuumade ja jahu vahel ning nende kõrge kontsentratsioonist kliides (3,4-4% kuivaine kohta) viitab fruktaanide ebahühtlasele jaotumisele teravilja tuumas (Knudsen, 2017).

Erinevalt teraviljadest leidub kaunviljades, nt soja, läätsed, lupiin, suuremas osakaalus (1% kuni enam kui 10%) GOS-e. Seevastu looduslikult madala FODMAP-i sisaldusega koostisosad hõlmavad erinevaid gluteenivabadest teraviljadest, pseudoteraviljadest või köögiviljadest (nt kaer, hirss, riis, mais, kinoa, kartul) jahusid ja tärkliseid, mis ei talleta fruktaane, GOS-e ega teisi FODMAP-e. (Ispiryan jt, 2020) Kaunviljade valgulistest koostisosadest GOS tase varieerub olenevalt nende tootmisprotsessist. Kommertsiaalsed kaunviljad sisaldavad mõõdukalt suures koguses GOS-e, vaatamata idanemisprotsessi GOS-e lagundavale mõjule (Kannan jt, 2018). Gluteenivabad teraviljad, nt kaer, hirss ja riis, samuti pseudoteraviljad nagu kinoa ja tatar, ei sisalda märkimisväärses koguses FODMAP-e. Tatar, mis on praegu loetletud madala FODMAP teraviljana, on aga silmapaistev lahustuvate süsivesikute nagu fagopüritoolide tõttu. Need suhkrud on mitteseeditavad, kääritatavad ja struktuurilt sarnased GOS-iga ning neil võib olla sarnane toime tundlikule soolestikule. Vaja on täiendavaid uuringuid, et teha kindlaks fagopüritoolide panus kõhupuhitust põhjustavasse toimesse. (Ispiryan jt, 2020) Lisaks fagopüritoolidele ja GOS-ile sisaldavad tatar ja kaunviljad tsüklitoolide ja nende  $\alpha$ -galaktosiide. Need on fagopüritoolide ja GOS-i biosünteesi prekursor- ja vaheühendid (Martínez-Villaluenga jt, 2008), mis võivad sarnaselt polüoolidele põhjustada muutusi soolestikus, kuid selle hüpoteesi kinnitamiseks on vaja teha täiendavaid *in vitro* ja *in vivo* uuringuid.

### Biotehnoloogilised meetodid

Madala FODMAP-ide sisaldusega tooteid saab toota kas vältides kõrge FODMAP-i koostisainete suurt osakaalu toote koostises või kasutades füüsikalisi ja/või biotehnoloogilisi meetodeid FODMAP-ide lagundamiseks tootmisprotsessi käigus. Tera- ja kaunviljades esinevaid põhilisi FODMAP-e (FOS, GOS) võib lagundada ensüümpreparaatide kasutamisega, fermentatsioonil tekkivate mikroobset päritolu ensüümidega või idanemisprotsessi ajal aktiveeritud endogeensete seemneensüümidega. Biotehnoloogilised FODMAP-i vähendamise tehnikad võimaldavad FODMAP-e sihipäraselt lagundada ning annavad tulemuseks tooted, mis on sarnaselt täisteratoodetele heaks kiudainete allikaks (Laatikainen jt, 2016).

### Ensüümide kasutamine

Inimorganismil puuduvad ensüümid, mis hüdrolüüsiks fruktaane fruktoosiks, mistõttu need polümeerid ei saa soolestikus imenduda (Gibson jt, 2006). Fruktaani lagundavad ensüümid on aga omased paljudele taimedele ja mikroobidele (Nyyssölä jt, 2020). Fruktaani lagundavateks ensüümideks on eksoinulinaas, endoinulinaas ja invertaas, mis erinevad üksteisest sihtmärgina lõhustatava glükosiidsideme poolest (Wang ja Li, 2013). Samuti on erinevatest mikroorganismidest isoleeritud mitmeid teisi fruktaani lagundavaid ensüüme

(Chaudhary jt, 1996). Toiduainetööstuses kasutatavad kommertsiaalsed ensüümpreparaadid on nt endoinulinaas, eksoinulinaas ja  $\alpha$ -galaktosidaas, mis pärinevad hallitusseenelt *Aspergillus niger* ning invertaasid pagaripärmilt või pärmseene perekonnalt *Candida*. Neist invertaase ja inulinaase kasutatakse pagaritoodete ja pasta tootmisel, kuna need ensüümid lagundavad teravilja fruktaanid fruktoosiks ja glükoosiks (Struyf jt, 2017; Atzler jt, 2020). Kuigi eeldatakse, et ka GOS-ide (nt rafinoosi) tase väheneb teraviljades ensüümide toimekiiresti, aitavad sahharoosist, rafinoosist ja fruktaanidest tekkivad melibioos ja fruktoos kaasa FODMAP-i kogusisalduse suurenemisel (Atzler jt, 2020). Seetõttu on vaja ensüümpreparaatide kasutamine siduda fermentatsioonipõhiste protsessidega. Nt pagaritoodete valmistamisel on efektiivsem meetod FODMAP-ide sisalduse vähendamiseks lisaks ensüümpreparaatide kasutamisele ka leivataina kääritamine pagaripärmi või leivajuuretisega. Pärmseened ja spetsiifilised piimhappebakterite (LAB) tüved kasutavad fruktoosi, mis vabaneb sahhariidide ensümaatilisel lagunemisel leivataina kääritamisel ja kerkimisel. Ensüümpreparaatide, pärmseente ja LAB-ide sünergistlik toime on tõhus strateegia FODMAP-i üldsisalduse vähendamiseks. Hiljuti demonstreerisid Acín Albiac jt (2020) oma uuringus kommertsiaalse invertaasi potentsiaali nisujuuretises koos tugevate fruktofiilsete piimhappebakterite (FLAB) tüvedega. Erinevalt teistest LAB-idest eelistavad FLAB-id kasvusubstraadina fruktoosi glükoosile ja kasutavad seda süsinikuallikana ja elektronaktseptorina. FLAB-id suudavad ära kasutada fruktaani lagunemisel vabanenud fruktoosi ilma mannitooli (levinud LAB-ide metaboliit leivajuuretistes) akumulatsioonita. Li jt (2020) kasutasid nisu- ja rukkijuuretisega ning pärmseentega kääritatud leiva valmistamisel kommertsiaalset eksoinulinaasi sisaldavat küpsetusainet Fazer LOFO™ ning saavutasid täieliku fruktaanide lagunemise ning väga madala fruktoosi ja mannitooli taseme. Fazer LOFO™ on esimene patenteeritud ensüümpreparaat madala FODMAP-sisaldusega rukki- ja nisuleiva tootmiseks. See sisaldab eksoinulinaasi (FruA), mis on eraldatud LAB tüvest *Lactobacillus crispatus* DSM 29598 ja mida toodetakse ka rekombinantset *Pichia pastoris* rakkudes. *L. crispatus*'e ekspresseeritud inulinaas eraldati omakorda Fazer OY leivajuuretisest, kus see näitas võimet tõhusalt lagundada fruktaane (Loponen, 2016; Loponen jt, 2017; Li jt, 2020). Patendi rakendusala näites kirjeldavad leiutajad ensüümi kasutamist pagaripärmiga kääritatud nisuleiva valmistamisel. Ensüüm (doseeringus 0,18% jahu osakaalust) lisati leivatainale koos 3% pagaripärmi ja 1,8% sahharoosiga. Leivatainas jäeti kerkima 2 tunniks 37 °C juurde. Saadud leiva fruktaani kontsentratsioon oli 0,05%, mis vähenes jahuga võrreldes 90%. Siiski oli fruktoosi kontsentratsioon leivas 0,4%, mis võib ületada fruktoosi ülejäägi piirväärtust 0,15 g/50 g leivas, kui glükoosi sisaldus leivas on alla 0,1%. Sellistel juhtudel võib ensüümi suurem doseering võimaldada fruktaani kiiremat lagunemist, kuna fruktaanide lagunemisel tekkivat fruktoosi

saab omakorda tarbida pärmseen. Atzler jt (2020) teatasid nisu fruktaanide peaaegu täielikust inulinaasi poolt vahendatud lagunemisest vesilahuses juba 1 tunni möödumisel kui kasutati 1 U ensüümi 0,001 mg fruktaanide kohta. Puhastatud ensüümide kasutamise täielikuks valideerimiseks madala FODMAP-i pagaritoodete valmistamisel, on vaja täiendavaid uuringuid, et teha kindlaks optimaalsed protsessiparameetrid (st ensüümi doseering, fermentatsiooniaeg ja -temperatuur, toote formulatsioon).

Alternatiivina võib kasutada ensüüme, nagu amüloglükosidaas ja amülaas, et vabastada glükoos tärglisest ja vähendada fruktoosi ülejääki glükoosi kohta (Melim Miguel jt, 2013). Siiski võib vaba glükoosi ja fruktoosi sisalduse suurenemisel toodetes olla mitmeid puudusi seoses sensorsete (liiga magus) ja toiteväärtuslike (kõrgenenud glükeemiline indeks) omadustega. Pastatoodete puhul ei pruugi liigse fruktoosi eemaldamiseks vaja minna täiendavaid töötlemismeetodeid, kuna eeldatakse, et vaba fruktoos kandub suures osas pasta keetmisel keeduveisse (Gélinas jt, 2016). Kui fruktaani ja fruktoosi piisav vähenemine saavutatakse ensüümpõhiselt fruktaani lagunemisega ning fruktoosi lõhustumisega pagaripärmi ja piimhappebakteritega, siis rafinoosi lagunemisest tulenev madal melibioosi tase mõjutab FODMAP-ide üldsisaldust suhteliselt vähe (juhul kui nisu on ainus GOS-i allikas). Sellegipoolest on FODMAP-i üldsisalduse arvutamisel oluline arvestada melibioosi tasemega. Täiendav strateegia GOS-ide  $\alpha$ -galaktosüüli sidemete lagundamiseks võivad olla vajalikud, kui kaalutakse teraviljapõhiste toodete rikastamist kaunviljadega, mis võimaldab ka taimse valgu koostise toiteväärtust tõsta (Boukid jt, 2019). Sedalaadi tooteid ei pea vältima madala FODMAP-i toitumise puhul, kuna inulinaaside/invertaaside ja  $\alpha$ -galaktosidaaside kombinatsiooni saab kasutada nii fruktaanide kui ka GOS-i lagundamiseks. Hiljutine uuring näitas  $\alpha$ -galaktosidaasi kasutamise potentsiaali erinevates kaunviljapõhiste toodete prototüüpides (liha-analoogid, kreekerid) GOS-i taseme alandamiseks enam kui 90% (Nyyssölä jt, 2021). Lisaks on kirjeldatud  $\alpha$ -galaktosidaaside kasutamist GOS-ide sisalduse vähendamiseks sojapõhistes piima-alternatiivides (Patil jt, 2010; Wang jt, 2014).

Inimestel ja mittemäletsejalistel loomadil puudub soolistikus  $\alpha$ -galaktosidaas ja seetõttu ei ole nad võimelised GOS-i seedima. GOS-i kui peamisi antitoidainete vastaseid ühendeid toiduainetes leidub peamiselt kaunviljades (Griffin ja Dean, 2017). Arvestades kaunviljade, eriti soja, üha olulisemat rolli tänapäevase toidu ja sööda valguallikana, pakub GOS-i vähendamine toiduainetes suurt huvi.  $\alpha$ -galaktosidaasid katalüüsivad galaktooside hüdrolyüsi GOS-i mitteredutseerivatest otstest. Neid ensüüme on suhkretööstuses kasutatud GOS-i hüdrolyüsiks, mis pärsivad sahharoosi kristalliseerumist.  $\alpha$ -galaktosidaase kasutatakse ka loomasööda eeltöötlemisel, et parandada sööda, näiteks sojajahu, seeduvust mittemäletsejalistel. Lisaks on saadaval mitmed

kaubanduslikud  $\alpha$ -galaktosidaasi sisaldavad toidulisandid, mis leevendavad inimestel kaunviljadel põhinevast toidust põhjustatud kõhugaase (Katrolia jt, 2012).  $\alpha$ -galaktosidaase toodavad ka taimed ja need aktiveeruvad idanemise ajal, mille tulemusena väheneb seemnetes oligosahhariidide sisaldus (Blöchl jt, 2007). Lisaks  $\alpha$ -galaktosidaasidele on teadaolevalt ka invertaasidel toime rafinoosi suhtes (Boddy jt, 1993). Nad hüdroolüüsivad rafinoosi melibioosiks ja fruktoosiks. On näidatud, et invertaasi kasutamine koos  $\alpha$ -galaktosidaasiga põhjustab soja- ja rapsijahus sisalduva rafinoosi ja stahhüoosi ulatuslikuma hüdroolüüsi kui hüdroolüüs ainult  $\alpha$ -galaktosidaasiga (Slominski, 1994). Enamikul juhtudel on ensümaatiline töötlemine soodne võrreldes teiste töötlustega, nagu leotamine, autoklaavimine, keetmine ja idandamine. Siiski tuleb märkida, et ensümaatiline oligosahhariidide hüdroolüüs on läbi viidud kaunviljajahuga, samas kui alternatiivsetes töötlustes kasutatakse terveid ube. (Nyyssölä jt, 2020)

### Fermentatsioon pärmseente ja piimhappebakteritega

Pärmseente ja piimhappebakterite spetsiifilised tüved võivad ekspresseerida invertaase, inulinaase või  $\alpha$ -galaktosidaase, mis lagundavad fermentatsiooni käigus oligosahhariide. Pagaripärm *Saccharomyces cerevisiae*, mis on pagaritoodete tööstuslikul tootmisel kõige sagedamini kasutatav kergitusaine, võib invertaasi ekspresseerida (Sainz-Polo jt, 2013). Pärmseente invertaasil on kõrgem afinsus lühikese ahelaga fruktaanide suhtes ja see lagundab fruktaanid fermentatsiooni esimese tunni jooksul kiiresti kuni polümerisatsiooniastmeni (DP) 5. Kõrgema DP-ga fruktaanide lagundamine toimub aeglasemalt (Nilsson jt, 1987). Sellegipoolest on mitmetes uuringutes (Pejcz jt, 2019; Laurent jt, 2020; Schmidt ja Sciorba, 2021) täheldatud, et pärmseene invertaasi toimel laguneb ligikaudu 40–90% leivataina nisujahus algselt sisalduvatest fruktaanidest. Kuigi pärmseen metaboliseerib osaliselt vabanenud fruktoosi, võib lühikese fermentatsiooniaja tõttu fruktoosi sisaldus 50 g leivas ületada 0,15 g. Ziegler jt (2016) uuring näitas esmakordselt pikendatud fermentatsiooni- ja kerkimisaja olulisust pagaripärmiga valmistatud madala FODMAP sisaldusega pagaritoodete valmistamisel. Pärast ühetunnist leivataina fermenteerimist ja kergitamist saavutati 60% fruktaanide lagunemine, kuid rafinoosist, sahharoosist ja fruktaanidest vabanenud fruktoos põhjustas leivas 1% liigse fruktoosi taseme. Fermentatsiooniaja pikendamine 4,5 tunnini andis tulemuseks enam kui 90% fruktaani lagunemise ja ainult 0,03% fruktoosi ülejäägi glükoosi kohta. Lisaks fermentatsiooni- ja kerkeajale on ka teisi tegureid (pagaripärmi doseering, jahu ekstraheerimisaste, muud koostisosades sisalduvad kääritatavate suhkrute allikad), mis mõjutavad FODMAP-ide sisaldust toodets. (Struyf jt, 2017; Schmidt ja Sciorba, 2021)

Alternatiivina tavapärasele pagaripärmile on erinevad perekonda *Saccharomyces* mittekuuluvad pärmseened tõestanud oma potentsiaali tõhusalt alandada FODMAP-i sisaldust täistera nisuleivas (Courtin jt, 2019; Laurent jt, 2021). Näiteks *Kluyveromyces marxianus* tüved lagundavad fruktaane palju tõhusamalt tänu rakuseinaga seotud inulinaasidele ja nende ekspressioonile kääritavas leivatainas, erinevalt *S. cerevisiae* tüvedest, mis lagundavad fruktaane ainult rakuseina invertaasidega. Kuna *K. marxianus* tüved ei fermenteeri maltoosi, siis tuleb neid kasutada kas kombinatsioonis *S. cerevisiae*'ga või tuleb kasutada alternatiivset süsivesikute allikat (nt sahharoosi või amüloglükosidaasi lisamist glükoosi vabastamiseks tähtselt), et saavutada leivataina piisav kerkimine. Samas viitavad Struyf jt (2017), et isegi täiendavate süsivesikute allikate kasutamisel on leiva fruktaani sisaldus palju madalam piirtasemest, kuna pärmseenel on ainulaadne võime ekspresseerida rakuväliseid inulinaase. Ispiryani jt (2021) uuringu tulemused viitavad, et ka *Lachancea fermentati* (kombucha pärmseen) lagundab fruktaane tõhusamalt kui pagaripärm ja selle kasutamisel toodetud leiva kvaliteedinäitajad (maht, tekstuur, aroom) on võrreldavad leivaga, mille valmistamisel on kasutatud ainult pagaripärmi. Samas vajab *L. fermentati* fruktaani lagunemise mehhanism veel täiendavat uurimist (Ispiryani jt, 2021). Fruktaanide sisalduse vähendamisel on nisujahu-vee segu fermenteerimisel paljulubavaid tulemusi näidanud ka leivajuuretise isoleeritud *Torulaspora delbrueckii* (Fraberger jt, 2018), kelle sihipärasest kasutamisest pagaritoodete tootmisel ei ole aga veel teatatud. Lisaks on uuritud võimalusi kasutada pärmseene *Kluyveromyces lactis* monokultuuri madala fruktaanisaldusega leiva tootmisel (Struyf jt, 2018).

Loponen ja Gänzle (2018) andmetel võib leivajuuretise kasutamine pagaritoodete tootmisel olla efektiivne lähenemisviis FODMAP-ide vähendamiseks, kuid võrreldes pagaripärmiga on see palju keerulisem meetod. Keerukus seisneb LAB-ide suures mitmekesisuses erinevates keskkonnatingimustes, mis omakorda mõjutab ainevahetuslikke protsesse. Pejcz jt (2020) ning Schmidt ja Sciorba (2021) rõhutavad vajadust rakendada leivajuuretise sihipärasest fermentatsiooni, mitte tavapärasest leivajuuretise tehnoloogia kasutamist. Esiteks piirdub fruktaani lagundamine piimhappebakteritega sageli lühikeste ahelate rakusisesel hüdroolüüsiga  $\beta$ -fruktosidaasidega (DP < 4), kuna kõrgema DP-ga oligosahhariide ei saa transportida rakusisesesse piirkonda (Gänzle, 2020; Loponen ja Gänzle, 2018). Lisaks ei kasuta heterofermentatiivne LAB süsinikuallikana fruktoosi, vaid redutseerib selle mannitooliks, mistõttu fruktoos toimib vähendatud kofaktorite regenereerimisel elektronide vastuvõtjana. Veel üks LAB-ide soovimatu omadus madala FODMAP-i sisaldusega pagaritoodete tootmisel on, et teatud liigid võivad toota fruktoosi monomeeridest (levaan, inuliin, fruktooligosahhariidid) koosnevaid eksopolüsahhariide (EPS). Nii mannitooli kui ka EPS-i tootmine



suureneb proportsionaalselt sahharoosi lisamisega juuretisele (Loponen ja Gänzle, 2018). Lisaks võivad LAB-id hüdrolüüsida levaansukraasi,  $\alpha$ -galaktosidaasi ja sahharoosi fosforülaasi aktiivsuse kaudu GOS-i. Kuna aga mitte kõik liigid ei väljenda  $\alpha$ -galaktosidaasi aktiivsust, võib GOS-i rikka materjali (nt kaunviljade) fermentatsioon viia melibioosi ja muude oligosahhariidide kuhjumiseni. Levaansukraasid, mis omakorda vabastavad fruktoosi GOS-i sahharoosi otsast, võivad samuti fruktaanide sünteesi katalüüsida. (Teixeira jt, 2012)

Kuigi ekstratsellulaarsed eksoinulinaasid (fruktanaasid) on LAB-is haruldased, on tuvastatud üksikud liigid, mis ekspresseerivad kahte erinevat eksoinulinaasi: FruA ja FosE. Eelpool kirjeldatud tüvi *L. crispatus* DSM 29598 (obligaatne homofermentatiivne) ekspresseerib FruA-d. Ekso-inulinaaside fülogeneetiline analüüs LAB-is on näidanud FruA esinemist piimhappebakterite *Ligilactobacillus salivarius*, *Ligilactobacillus equi*, *Latilactobacillus curvatus*, *Lb. amylovorus* ja *Lb. delbrueckii* genoomides. Eksoinulinaasi FosE olemasolu on tuvastatud *Lacticaseibacillus paracasei* genoomis ja homoloogid on leitud *Lacticaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *P. acidilactici* ja *Liquorilactobacillus* spp. genoomides. Fruktaanide lagundava LAB kasvu võib soodustada kahjustatud, madala tärklisesisaldusega, jahu valimine, kuna sellisel juhul on fermenteeritavate süsivesikute allikana tärklise asemel fruktaanid eelistatum. (Loponen, 2016) Fruktaanide lagundavate LAB-ide või FruA-d/FruE-d sisaldava koostisosa sünergistlik toime koos pagaripärmiga suudab lagundada enamiku nisus ja rukis esinevatest fruktaanidest ilma fruktoosi või mannitooli akumulatsioonita (Li jt, 2020). Lisaks fruktaanide ja GOS-ide vähendamisele pagaritoodetes, on mõnel juhul uuritud ka GOS-ide vähendamist fermenteeritud kaunviljades. Näiteks Adeyemo ja Onilude (2014) eemaldasid tervetest sojaubadest *Lactiplantibacillus plantarum* kääritamisel ligikaudu 70% GOS-ist. GOS-i täielikku või peaaegu täielikku eemaldamist on täheldatud mitmetes oa-jahu kääritamise uuringutes erinevate piimhappebakterite abil (Xu jt, 2017; Rizzello, 2019).

### Endogeensete seemneensüümide aktiveerimine

Seemnete idanemisel käivitavad madalad temperatuurid ja kõrge niiskus idanemisprotsessi, põhjustades taimsete hormoonide tootmist, mis stimuleerib endogeensete ensüümide tootmist ja aktiveerimist, mis omakorda võivad hüdrolüüsida talletatud süsivesikuid (Bewley jt, 2013). Need ensüümid muudavad seemnete koostist ja toiteväärtust, mis on oluline linnastatud või idandatud koostisosade puhul, mida kasutatakse pruulimisel või ka funktsionaalse komponendina pagaritoodetes. Idanemisprotsess mõjutab positiivselt maitset ning suurendab bioaktiivsete ühendite ja mineraalainete sisaldust tera- ja

kaunviljades ning pseudoteraviljades (Mäkinen ja Arendt, 2015). Ehkki erialase terminoloogia järgi lõpetatakse idanemine idujuure väljaulatumisega seemnekestast (Bewley jt, 2013), sisaldab enamik kirjandust idanemisprotsessile viidates tähelepanekuid, mis on tehtud seemiku kasvu järgmises etapis. Seega järgnevalt kirjeldatud idandamise mõju FODMAP-idele hõlmab nii tegelikku idanemist kui ka järgnevat seemikute kasvuetappi. Idanemisprotsessi ajal suureneb  $\alpha$ -galaktosidaasi aktiivsus, mis hüdrolüüsib rafinoosi, stahhüoosi ja verbaskoosi seedimatuid sidemeid (Blöchl jt, 2008). Idanemise potentsiaali vähendada GOS-i taset paljudes kaunviljades on ulatuslikult uuritud ja see on osutunud tõhusaks kuni nende täieliku eemaldamiseni (Nyyssölä jt, 2020). Teadaolevalt idanemine valguse juuresolekul või pimedas ei mõjuta GOS-ide lagunemist, küll aga on lagunemise ulatus otseses korrelatsioonis idanemisajaga – oligosahhariidide sisaldus ajas pidevalt väheneb (Wang jt, 1997). Samuti on idanemine osutunud tõhusaks GOS-ide sisalduse vähendamisel teraviljades ja pseudoteraviljades, nagu ka teiste  $\alpha$ -galaktosiidide (nt tatra sisalduvad fagopüritoolid) vähendamisel (Jia jt, 2015). Vaatamata paljudele uuringutele, mis on tuvastanud GOS-ide olulist vähenemist pärast 2-6 päevast idanemist, siis Tuck jt (2018) täheldasid idandatud kikerhernestes kõrge GOS-ide taset. Idanevad seemned sisaldavad nii anaboolseid kui ka kataboolseid ensüüme ning tavaliselt domineerib GOS-ide katabolism. Juhul kui idanemisprotsess on häiritud, näiteks kuivamise tõttu, võib alata GOS-ide biosüntees (Blöchl jt, 2008). See toob välja kontrollitud idanemistingimuste olulisuse soovitud tasemel GOS-ide lagunemise saavutamiseks. Idanemisel toimuv ensümaatiline lagunemine koos GOS- i füüsilise eemaldamisega toiduvalmistamise ajal, on GOS-i vähendamiseks eriti tõhus. Eeltoodu vajab aga täiendavaid uuringuid, et selgelt määratleda idanemistingimused, mis on vajalikud erinevat tüüpi kaunviljade piisavalt madala GOS-ide taseme saavutamiseks.

Erinevalt hästi uuritud GOS-i metabolismist erinevate seemnete idanemise ajal, on teravilja idanemise ajal fruktaani metabolismi puudutavad biokeemilised muutused pälvinud palju vähem tähelepanu. Siiski on mõningates uuringutes teatatud selgest fruktaani sisalduse dünaamikast linnaseprotsessi ajal, mida väidetavalt kontrollivad ka taimede fruktaani metabolismi erinevad anaboolsed ja kataboolsed ensüümid nt invertaasid, fruktaanhüdrolaasid ja fruktosüültransferaasid (Ispiryan jt, 2021). Esialgsele kergele langusele leotamise ajal järgneb fruktaanisalduse oluline suurenemine 3-9 päevasel idanemisel, millele järgneb selle osaline lagunemine kuivatamise ajal. Odrast, nisust ja speltast saadud rohelistes linnases (enne kuivatamist idandatud terad) sisaldasid sõltuvalt idanemisaja kestusest 30–300% rohkem fruktaani kui toored terad (Krahl jt, 2008). Idandatud kaer sisaldas isegi *de novo* sünteesitud fruktaani 1,4% kuivaine kohta, toored terad aga ainult jääke (Ispiryan jt, 2021).



Vaatamata vähenemisele kuivatamisetapis (kuni ~50%), oli odra-, spelta- ja nisulinnaste fruktaanisaldus siiski 10–60% kõrgem võrreldes toorainega ning kaeralinnased sisaldasid endiselt 0,8% fruktaane kuivaine kohta (Krahl jt, 2008; Ispiryan jt, 2021). Kuigi Krahl jt (2009) ei tuvastanud olulisi muutusi õlleodra fruktaanisalduses, võib seda seletada kuivatamise mõjuga, mis võis kompenseerida idanemise ajal toimunud suurenemist. See-eest Tuck jt (2018) täheldasid fruktaanisalduse langust nisu-, odra- ja rukkiterades. Kuna aga tulemused on esitatud värske kaalu põhjal ja idud sisaldavad ligikaudu 50% vett, võrreldes kuivade seemnetega, mis sisaldavad 10–15% vett, võib seda mõju vähemalt osaliselt seletada fruktaanide lahjendamisega. Sellegipoolest peaksid täiendavad uuringud selgitama, kas kõikumised idanemisprotsessis (nt leotamisaeg ja -tingimused, kokkupuude valgusega) võivad nihutada fruktaanide metabolismi katabolismi suunas.

### Kokkuvõte

Toidu FODMAP-i sisaldust saab oluliselt vähendada ensüümide, fermenteerimise ja idandamisega. Ensüümpõhised meetodid FODMAP-ide lagundamiseks on kergemini kontrollitavad kui fermenteerimine ja idandamine. Mõningaid FODMAP-e vähendavate meetodite põhimõtteid on toidutootmises rakendatud sajandeid, nt pagaripärmi ja leivajuuretise kasutamine leiva valmistamisel. Samas ei garanteeri traditsiooniliste tehnoloogiate kasutamine FODMAP-ide lagunemist vajalikul tasemel. Oluline on läheneda praegustele biotehnoloogilistele meetoditele sihipäraselt ning uurida ensüümide ning piimhappebakterite ja pärmseente tüvede sünergistlikke mõjusid FODMAP-ide vähendamisel ning toodete sensoorsetele omadustele. Lisaks efektiivsetele FODMAP-i vähendamise strateegiate väljaselgitamisele, tuleb rõhutada, et FODMAP-ide täielik eemaldamine ei ole soovitatav. Eelkõige on mitmed FODMAP-id olulised prebiootikumid ja neid tuleks vähendada üksnes nii palju kui vajalik.

### Tänuõnad

Uuringut rahastati Euroopa Regionaalarengu Fondi ja Eesti Teadusagentuuri vahenditest programmi ”Ressursside väärimise alase teadus- ja arendustegevuse toetamine (RESTA)” raames läbi projekti RESTA28 ”Teravilja ja õlikultuuride väärimine”.

### Kasutatud kirjandus

- Acin Albiac, M., Di Cagno, R., Filannino, P., Cantatore, V., Gobbetti, M. (2020). How fructophilic lactic acid bacteria may reduce the FODMAPs content in wheat-derived baked goods: A proof of concept. *Microbial Cell Factories*, Vol. 19, pp 182-192.
- Adeyemo, S. M., Onilude, A. A. (2014). Reduction of oligosaccharide content of soybeans by the action of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented cereals. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 13, pp 3790-3796.
- Atzler, J. J., Ispiryan, L., Gallager, E., Sahin, A. W., Zannini, E., Arendt, E. K. (2020). Enzymatic degradation of FODMAPS via application of  $\beta$ -fructofuranosidases and  $\alpha$ -galactosidases - A fundamental Study. *Journal Cereal Science*, Vol. 95, pp 1-8.
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W., Nonogaki, H. (2013) Seeds: Physiology of development, germination and dormancy (3rd ed.). Springer New York.
- Biesiekierski, J. R., Rosella, O., Rose, R., Liels, K., Barrett, J. S., Shepherd, S. J., Gibson, P. R., Muir, J. G. (2011). Quantification of fructans, galacto-oligosaccharides and other short-chain carbohydrates in processed grains and cereals. *Journal of Human Nutrition and Dietetics: The Official Journal of the British Dietetic Association*, Vol. 24, pp 154-176.
- Blöchl, A., Peterbauer, T., Richter, A. (2007). Inhibition of raffinose oligosaccharide breakdown delays germination of pea seeds. *Journal of Plant Physiology*, Vol. 164, pp 1093-1096.
- Blöchl, A., Peterbauer, T., Hofmann, J., Richter, A. (2008). Enzymatic breakdown of raffinose oligosaccharides in pea seeds. *Planta*, Vol. 228, pp 99-110.
- Boddy, L. M., Bergès, T., Barreau, C., Vainstein, M. H., Dobson, M. J., Ballance, D. J., Peberdy, J. F. (1993). Purification and characterisation of an *Aspergillus niger* invertase and its DNA sequence. *Current Genetics*, Vol. 24, pp 60–66.
- Boukid, F., Zannini, E., Carini, E., Vittadini, E. (2019). Pulses for bread fortification: A necessity or a choice? *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 88, pp 416-428.
- De Giorgio, R., Volta, U., Gibson, P. R. (2016). Sensitivity to wheat, gluten and FODMAPs in IBS: Facts or fiction? *Gut*, Vol. 65, pp 169–178.
- Chaudhary, A., Gupta, L. K., Gupta, J. K., Banerjee, U. C. (1996). Purification and properties of levanase from *Rhodotorula* sp. *Journal of Biotechnology*, Vol. 46, pp 55-61.
- Courtin, C., Struyf, N., Thevelein, J., Verstrepen, K. (2019). Whole-meal bread with reduced FODMAP content. WO 2019/034630 A1.
- Fraberger, V., Call, L.-M., Domig, K. J., D’Amico, S. (2018). Applicability of yeast fermentation to reduce fructans and other FODMAPs. *Nutrients*, Vol. 10, pp 1-14.
- Gélinas, P., McKinnon, C., Gagnon, F. (2016). Fructans, water-soluble fibre and fermentable sugars in bread and pasta made with ancient and modern wheat. *International Journal of Food Science & Technology*, Vol. 51, pp 555–564.

- Gibson, P. R., Shepherd, S. J. (2005). Personal view: Food for thought-western lifestyle and susceptibility to Crohn's disease. The FODMAP hypothesis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Vol. 21, pp 1399–1409.
- Gibson, P. R., Newnham, E., Barrett, J. S., Shepherd, S. J., Muir, J. G. (2006). Review article: Fructose malabsorption and the bigger picture. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Vol. 25, pp 349–363.
- Gibson, P. R., Shepherd, S. J. (2010). Evidence-based dietary management of functional gastrointestinal symptoms: The FODMAP approach. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, Vol. 25, pp 252–258.
- Gibson, P. R., Varney, J., Malakar, S., Muir, J. G. (2015). Food Components and Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology*, Vol. 148, pp 1158–1174.
- Griffin, L., Dean, L. (2017). Nutrient composition of raw, dry-roasted, and skin-on cashew nuts. *Journal of Food Research*, Vol. 6, pp 13–28.
- Gänzle, M. G. (2020). Food fermentations for improved digestibility of plant foods - an essential *ex situ* digestion step in agricultural societies? *Current Opinion in Food Science*, Vol. 32, pp 124–132.
- Ispiryan, L., Zannini, E., Arendt, E. K. (2020). Characterization of the FODMAP-profile in cereal-product ingredients. *Journal of Cereal Science*, Vol. 92, pp 1–10.
- Ispiryan, L., Zannini, E., Arendt, E. K. (2021). FODMAP modulation as a dietary therapy for IBS: Scientific and market perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 21, pp 1491–1516.
- Jia, C.-F., Hu, W.-H., Chang, Z., Gao, H.-L. (2015). Acid  $\alpha$ -galactosidase is involved in D-chiro-inositol accumulation during tartary buckwheat germination. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, Vol. 84, pp 53–65.
- Kannan, U., Sharma, R., Gangola, M. P., Chibbar, R. N. (2018). Improving grain quality in pulses: strategies to reduce raffinose family oligosaccharides in seeds. *Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics*, Vol. 4, pp 70–88.
- Katrolia, P., Jia, H., Yan, Q., Song, S., Jiang, Z., Xu, H. (2012). Characterization of a protease-resistant  $\alpha$ -galactosidase from the thermophilic fungus *Rhizomucor miehei* and its application in removal of raffinose family oligosaccharides. *Bioresource Technology*, Vol. 110, pp 578–586.
- Krahl, M., Hagel, M., Zarnkow, M., Back, W., & Kreis, S. (2008). Changes of the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat (*Triticum aestivum* var. *spelta*). *Brewing Science*, Vol. 61, pp 170–174.
- Krahl, M., Müller, S., Zarnkow, M., Back, W., Becker, T. (2009). Arabinoxylan and fructan in the malting and brewing process. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, Vol. 1, pp 246–255.

- Laatikainen, R., Koskenpato, J., Hongisto, S.-M., Loponen, J., Poussa, T., Hillilä, M., Korpela, R. (2016). Randomised clinical trial: low-FODMAP rye bread vs. regular rye bread to relieve the symptoms of irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 44, pp 460–470.
- Latulippe, M. E.; Skoog, S. M. (2011). Fructose malabsorption and intolerance: Effects of fructose with and without simultaneous glucose ingestion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol 51, pp 583–592.
- Laurent, J., Timmermans, E., Struyf, N., Verstrepen, K. J., Courtin, C. M. (2020). Variability in yeast invertase activity determines the extent of fructan hydrolysis during wheat dough fermentation and final FODMAP levels in bread. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 326, 10864.
- Laurent, J., Struyf, N., an Bautil, Bakeeva, A., Chmielarz, M., Lyly, M., Herrera-Malaver, B., Passoth, V., Verstrepen, K. J., Courtin, C. M. (2021). The potential of *Kluyveromyces marxianus* to produce low-FODMAP straight-dough and sourdough bread: A pilot-scale study. *Food and Bioprocess Technology*, Vol. 14, pp 1920–1935.
- Loponen, J. (2016). Low-fructan grain material and a method for producing the same. WO 2016/113465 A1
- Loponen, J., Mikola, M., & Sibakov, J. (2017). An enzyme exhibiting fructan hydrolase activity. WO 2017/220864 A1.
- Loponen, J., Gänzle, M. G. (2018). Use of sourdough in low FODMAP baking. *Foods*, Vol. 7, 96.
- Li, Q., Loponen, J., Gänzle, M. G. (2020). Characterization of the extracellular fructanase fruA in *Lactobacillus crispatus* and its contribution to fructan hydrolysis in breadmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol 68, pp 8637–8647.
- Makki, K., Deehan, E. C., Walter, J., Bäckhed, F. (2018). The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. *Cell Host & Microbe*, Vol. 23, pp 705–715.
- Marsh, A., Eslick, E. M., Eslick, G. D. (2016). Does a diet low in FODMAPs reduce symptoms associated with functional gastrointestinal disorders? A comprehensive systematic review and meta-analysis, *European Journal of Nutrition*, Vol. 55, pp 897–906.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., & Vidal-Valverde, C. (2008). Alpha-galactosides: Antinutritional factors or functional ingredients? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 48, pp 301–331.
- Melim Miguel, A. S., Souza Martins-Meyer, T., Costa Figueiredo, E. V., Paulo Lobo, B. W., Dellamora-Ortiz, G. M. (2013). Enzymes in bakery: Current and future trends. *Food industry*. IntechOpen.
- Muir, J. G., Shepherd, S. J., Rosella, O., Rose, R., Barrett, J. S., Gibson, P. R. (2007). Fructan and free fructose content of common Australian vegetables and fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55, pp 6619–6627.

- Murray, K., Wilkinson-Smith, V., Hoad, C., Costigan, C., Cox, E., Lam, C., Marciani, L., Gowland, P., Spiller, R. C. (2014). Differential effects of FODMAPs (fermentable oligo-, di-, mono-saccharides and polyols) on small and large intestinal contents in healthy subjects shown by MRI. *The American Journal of Gastroenterology*, Vol. 109, pp 110-119.
- Mäkinen, O. E., Arendt, E. K. (2015). Nonbrewing applications of malted cereals, pseudocereals, and legumes: A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, Vol. 73, pp 223-227.
- Nilsson, U., Öste, R., & Jägerstad, M. (1987). Cereal fructans: Hydrolysis by yeast invertase, in vitro and during fermentation. *Journal of Cereal Science*, Vol. 6, pp 53-60.
- Nyyssölä, A., Ellilä, S., Nordlund, E., & Poutanen, K. (2020). Reduction of FODMAP content by bioprocessing. *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 99, pp 257-272.
- Nyyssölä, A., Nisov, A., Lille, M., Nikinmaa, M., Rosa-Sibakov, N., Ellilä, S., Valkonen, M., & Nordlund, E. (2021). Enzymatic reduction of galactooligosaccharide content of faba bean and yellow pea ingredients and food products. *Future Foods*, Vol. 4, pp 1-9.
- Patil, A. G. G., K, P. K. S., Mulimani, V. H., Veeranagouda, Y., Lee, K. (2010). Alpha-Galactosidase from *Bacillus megaterium* VHM1 and its application in removal of flatulence-causing factors from soymilk. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 20, pp 1546-1554.
- Pejcz, E., Szychaj, R., Gil, Z. (2019). Technological methods for reducing the content of fructan in wheat bread. *Foods*, Vol. 8, 663.
- Pejcz, E., Szychaj, R., Gil, Z. (2020). Technological methods for reducing the content of fructan in rye bread. *European Food Research and Technology*, Vol. 246, pp 1839-1846.
- Rizzello, C. G. (2019). Characterization of indigenous *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc kimchii*, *Weissella cibaria* and *Weissella confusa* for faba bean bioprocessing. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 302, pp 24-34.
- Sainz-Polo, M. A., Ramírez-Escudero, M., Lafraya, A., González, B., Marín-Navarro, J., Polaina, J., Sanz-Aparicio, J. (2013). Three-dimensional structure of *Saccharomyces* invertase: Role of a non-catalytic domain in oligomerization and substrate specificity. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 288, pp 9755-9766.
- Schmidt, M., & Sciarba, E. (2021). Determination of FODMAP contents of common wheat and rye breads and the effects of processing on the final contents. *European Food Research and Technology*, Vol. 247, pp 395-410.
- Slominski, B. A. (1994). Hydrolysis of galactooligosaccharides by commercial preparations of  $\alpha$ -galactosidase and  $\beta$ -fructofuranosidase: Potential for use as dietary additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 65, 323.
- Struyf, N., Laurent, J., Verspreet, J., Verstrepen, K. J., Courtin, C. M. (2017). *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianus* cocultures allow reduction of fermentable oligo-, di-, and monosaccharides and polyols levels in whole wheat bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 65, pp 8704-8713.
- Struyf, N., Vandewiele, H., Herrera-Malaver, B., Verspreet, J., Verstrepen, K. J., Courtin, C. M. (2018). *Kluyveromyces marxianus* yeast enables the production of low FODMAP whole wheat breads. *Food Microbiology*, Vol. 76, pp 135-145.
- Teixeira, J. S., McNeill, V., Gänzle, M. G. (2012). Levansucrase and sucrose phosphorylase contribute to raffinose, stachyose, and verbascose metabolism by lactobacilli. *Food Microbiology*, Vol. 31, pp 278-284.
- Tuck, C. J., Muir, J. G., Barrett, J. S., Gibson, P. R. (2014). Fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols: role in irritable bowel syndrome. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, Vol. 8, pp 819-834.
- Tuck, C., Ly, E., Bogatyrev, A., Costetsov, I., Gibson, P., Barrett, J., Muir, J. (2018). Fermentable short chain carbohydrate (FODMAP) content of common plant-based foods and processed foods suitable for vegetarian- and vegan-based eating patterns. *Journal of Human Nutrition and Dietetics: The Official Journal of the British Dietetic Association*, Vol. 31, pp 422-435.
- Varney, J., Barrett, J., Scarlata, K., Catsos, P., Gibson, P. R., & Muir, J. G. (2017). FODMAPs: Food composition, defining cutoff values and international application. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, Vol. 32, pp 53-61.
- Wang, N., Lewis, M. J., Brennan, J. G., Westby, A. (1997). Optimization of germination process of cowpea by response surface methodology. *Food Chemistry*, Vol. 58, pp 329-339.
- Wang, S.-A., & Li, F.-L. (2013). Invertase SUC2 is the key hydrolase for inulin degradation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 79, pp 403-406.
- Wang, H., Shi, P., Luo, H., Huang, H., Yang, P., Yao, B. (2014). A thermophilic  $\alpha$ -galactosidase from *Neosartorya fischeri* P1 with high specific activity, broad substrate specificity and significant hydrolysis ability of soymilk. *Bioresource Technology*, Vol. 153, pp 361-364.
- Xu, Y., Coda, R., Shi, Q., Katina, K., Tenkanen, M. (2017). Exopolysaccharides production during the fermentation of soybean and faba bean flours by *Leuconostoc mesenteroides* DSM 20343. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 65, pp 2805-2815.
- Ziegler, J. U., Steiner, D., Longin, C. F. H., Würschum, T., Schweiggert, R. M., Carle, R. (2016). Wheat and the irritable bowel syndrome - FODMAP levels of modern and ancient species and their retention during bread making. *Journal of Functional Foods*, Vol. 25, pp 257-266.

### ***Biotechnological methods to reduce the content of FODMAPs in cereals and legumes***

*Fermentable oligo- di- and mono-saccharides and polyols (FODMAPs) are described as carbohydrates that can be poorly absorbed in the small intestine. Gut microbiota rapidly ferment them into short-chain fatty acids and gases, causing severe and painful gastrointestinal symptoms in people with functional gastrointestinal disorders. Cereals, legumes and products thereof play a major role in the FODMAP intake. The study aimed was to provide an overview of biotechnological methods for the removal and reduction of FODMAPs in grains and legumes. The focus was on the reduction or removal of fructan and  $\alpha$ -galacto-oligosaccharides by fermentative and enzymatic processes, as well as activation of endogenous enzymes by germination. Enzyme-based methods are more specific and easier to control in reducing FODMAP content than those based on fermentation and germination.*

**Keywords:** *fructans, galacto-oligosaccharides, sourdough, germination, enzymes*

**Corresponding author:** [liis.lutter@emu.ee](mailto:liis.lutter@emu.ee) (Liis Lutter)

## **TERVISLIK TOIT**

**Esitatud virtuaalsete stendiettekannetena**



## Taimsete lisandite mõju verivorstide säilivusele ja kvaliteedile

Kadrin Meremäe<sup>1\*</sup>, Mati Roasto<sup>1</sup>, Dea Anton<sup>1</sup>, Marek Tepper<sup>2</sup>, Terje Elias<sup>1</sup>, Kristi Kerner<sup>2,4</sup>, Reelika Rätsep<sup>3,4</sup>, Tõnu Püssa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetooli toiduhügieeni ja -ohutuse üksus

<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool

<sup>3</sup>EMÜ põllumajandus- ja keskkonna instituut, aianduse õppetool, Polli aiandusuuringute keskus

<sup>4</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, ERA õppetool VALORTECH

\*kadrin.meremae@emu.ee

### Sissejuhatus

Kuna verivorstid on eestlaste toidulaual olulisel kohal, siis pakub huvi nende koostise tootarendus naturaalsemate toodete suunas. Üks võimalus on verivorstide koostises kasutada taimseid lisandeid, millel on teaduslikult tõestatud rikkalik bioaktiivsete ainete sisaldus. Näiteks aroonia (Borowska & Brzóska, 2016), mustsõstar (Raudsepp jt, 2010) ja õun (Biedrzycka & Amarowicz, 2008) sisaldavad märkimisväärses koguses polüfenoolseid ühendeid, mis toimivad inimorganismis võimekate antioksüdantidena (Zhang & Tsao, 2016). Lisaks on polüfenoolidel leitud ka antimikroobseid (Paunović jt, 2022) ja põletikuvastaseid omadusi (Yahfoufi jt, 2018). Samuti on taimsed ekstraktid ja pulbrid lihapõhistes mudelites tõestanud lipiidide oksüdatsiooni pidurdavat efekti (Burri jt, 2020). Eelmainitud põhjustel pakuvad toidutehnoloogias huvi ka tootmise kõrvalsaadusena tekkivad taimsed pressjääd, mis sisaldavad väärtuslikke bioaktiivseid aineid (Rätsep jt., 2022; Fierascu jt, 2020; Klavins jt, 2018) ning millega saab parandada toodete maitseomadusi, tekstuuri, pikendada säilivust ja vähendada sünteetiliste lisaainete kasutamist toidus (Calderón-Oliver & López-Hernández, 2022). Pressjäädide kasutusele võtmine on heas kooskõlas ka ring- ja biomajanduse eesmärkide täitmisega. Taimsete lisandite optimaalsete kombinatsioonidega on võimalik anda verivorstidele lisandväärtus, millega tagatakse stabiilse mikrobioloogilise kvaliteedi ja heade organoleptiliste omadustega lõpptoode.

Käesoleva töö eesmärgiks on anda ülevaade taimsete lisanditena kasutatud õuna-, mustsõstra- ja arooniamahla pressjäädide mõjust verivorstide mikrobioloogilistele, füüsikalis-keemilistele ja organoleptilistele näitajatele.

### Materjal

Uuringusse kaasatud taimsete lisandite (õun, mustsõstar ja aroonia) saamiseks kasutati taimse toorme esmatöötlemise kõrvalsaaduseid ehk mahlapressimise jääke, mis koguti EMÜ PKI aianduse õppetooli Polli aiandusuuringute keskuse töötlemisüksuses. Taimne materjal kuivatati kondensatsioonkuivatiga (Alpfrigo CFD 1400 SS, Logatec, Sloveenia) temperatuuril 40 °C. Proovid jahvatati kohviveskis pulbriks ning pakendati õhu- ja valguskindlalt kuni kasutamiseni.

Taimseid lisandeid kasutati verivorstide koostises, mille põhiresepti kuulusid keedetud kruup ja kamar, toiduveri, pekk, sibul, keedusool ning maitseainetena mustpipar, vürts ja majoraan. Katseteks valiti uuringusse järgmised kombinatsioonid: (1) verivorst ilma lisanditeta (kontroll); (2) verivorst 4% õunaga; (3) verivorst 2% õuna ja 2% mustsõstraga; (4) verivorst 2% õuna ja 2% arooniaga; (5) verivorst 2% õuna ja 1% aroonia ja 1% mustsõstraga.

### Metoodika

Verivorstid valmistati EMÜ toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetooli laboris. Lambasooled (d=19–21 mm) täideti vorstiseguga ning kuumtöödeldi koheselt konvektsioonahjus (Inoxtrend E1 CUA-107E; Via Serenissima, Itaalia) auru juuresolekul 80 °C juures 30 minutit, sisetemperatuurini vähemalt +72 °C. Seejärel proovid jahutati +4 °C jahutuskambris 2 tunni jooksul. Üks osa vorstidest jagati vastavalt analüüsipäevade arvule ja proovid pakendati vaakumisse; teine osa vorstidest küpsetati ning analüüsiti sensoorselt, hinnates verivorstide üldist välimust, lõikepinda, lõhna ja maitset (sh järelmaitset). Hindamisel osales 10 hindajat. Proove hinnati 9-pallises süsteemis ning hindajatel oli võimalus esitada oma arvamus kommentaaridena.

Mikrobioloogilised ja füüsikalis-keemilised analüüsid teostati EMÜ veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetooli toiduhügieeni ja -ohutuse üksuse laborites. Vaakumpakendatud proove säilitati külmikus temperatuuril 4±2 °C ning analüüsiti 1., 6., 14., 21. ja 28. säilituspäeval kahes korduses. Verivorstides määrati aeroobsete mesofiilsete bakterite arvukus temperatuuril 30 °C vastavalt standarditele EVS-EN ISO 6887-2:2017 ja EVS-EN ISO 4833-2:2013. Pärmide ja hallituste loendamine toimus vastavalt standardis EVS-ISO 21527-1:2009 kirjeldatud metoodikale 25 °C juures. pH mõõdeti toatemperatuuril pH-meetriga HandyLab 680 (SI Analytics). Veeaktiivsus ( $a_w$ ) määrati temperatuuril 25 °C seadmega Aqualab Decagon 3TE (Decagon Devices Inc., Pullman, USA).

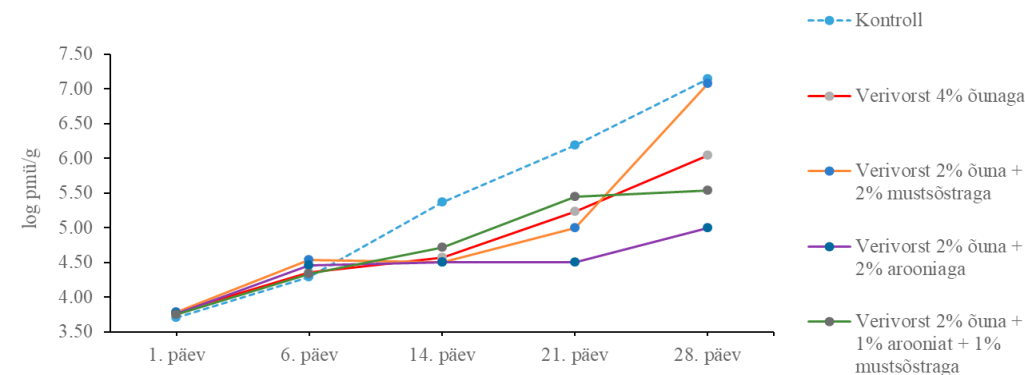
## Tulemused ja arutelu

Aeroobsete mesofiilsete bakterite arvukus verivorstides on esitatud joonisel 1. Mikroorganismide üldarv oli 1. päeval kõikides proovides vahemikus 3,71–3,79 log pmü/g, tõustes 6. päevaks sarnaselt kõikides proovides arvukuseni 4,29–4,54 log pmü/g. Oluline erinevus kontrollproovi ja teiste uuritud proovide vahel ilmnes alles 14. päeval, kui kontrollproovis tõusis mikroorganismide arvukus väärtuseni 5,37 log pmü/g, jäädes ülejäänud proovides vahemikku 4,50–4,72 log pmü/g.

Toidu säilimisaja määramise juhendi (Roasto ja Laikoja, 2020) alusel loetakse verivorstides aeroobsete mikroorganismide arv 30 °C juures rahuldavaks 5,00 log pmü/g ja kriitiliseks 6,00 log pmü/g korral. Sellest ja käesoleva uuringu analüüsitulemustest saab järeldada, et valitud õuna- ja marjapulbreid on võimalik kasutada verivorstide koostises tagades verivorstidele vähemalt 28-päevase säilimisaja. Veelgi enam, kui kontrolltootes jätkus mikroorganismide kasv ka 21. ja 28. säilituspäeval kuni arvukuseni 7,14 log pmü/g, siis taimsete lisanditega verivorstides ilmnes hoopis mikroobide kasvu pidurdumine.

Mikrobioloogiliste kvaliteedinäitajate põhjal osutus kõige paremaks verivorst 2% õuna- ja 2% aroonialisandiga, kus bakterite arvukus püsis 14.–21. päevani konstantsena vahemikus 4,46–4,50 log pmü/g tõustes katse viimaseks, 28. päevaks väärtuseni 5,00 log pmü/g. Nende tulemuste põhjal saaks antud tootele kehtestada 28-päevase säilimisaja eeldusel, et on tagatud säilitamistemperatuur mitte üle 4 °C.

Teistes proovides oli bakterite arvukus 14.–21. päeval mõnevõrra kõrgem, jäädes vahemikku 5,00–5,45 log pmü/g, kuid suurema erinevusi proovide vahelt täheldati alles 28. säilituspäeval. Kui 2% õuna ja 2% mustsõstraga verivorstiproovis tõusis mikroorganismide arvukus säilimisaja lõpus sarnaselt kontrollile, siis 4% õuna või 2% õuna, 1% aroonia ja 1% mustsõstraga verivorstides jäi nende arvukus võrreldes kontrolltootega madalamaks, olles vastavalt 6,04 ja 5,54 log pmü/g. Nende toodete puhul saab säilimisajaks kehtestada 21 päeva, mille jooksul on tagatud vähemalt rahuldavad mikrobioloogilised kvaliteedinäitajad. Lisanditeta verivorsti ning 2% õuna ja 2% mustsõstraga verivorstide mikrobioloogiline säilimisaeg oli vastavalt 14 ja 21 päeva. Tulemuste võrdlemisel kontrolliga saab järeldada, et taimsetel lisanditel on aeroobsete mesofiilsete mikroorganismide kasvu pidurdav mõju.

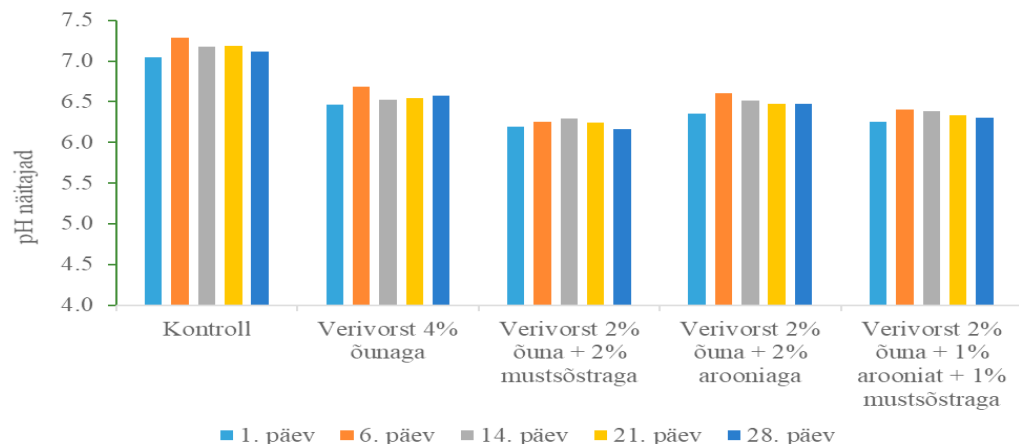


**Joonis 1.** Verivorstides leiduvate aeroobsete mesofiilsete bakterite arvukuse (log pmü/g) dünaamika 28-päevase säilitusperioodi jooksul.

Pärm- ja hallitusseente arvukus jäi kõikides verivorstiproovides kogu 28-päevase säilitusperioodi jooksul alla 1 log pmü/g. Lähtudes toidu säilimisaja määramise juhendist (Roasto ja Laikoja, 2020) loetakse pärm- ja hallitusseente puhul arvukus 3 log pmü/g rahuldavaks tulemuseks. Seega, tagab taimsete lisandite kasutamine nende verivorstide hea mikrobioloogilise kvaliteedi.

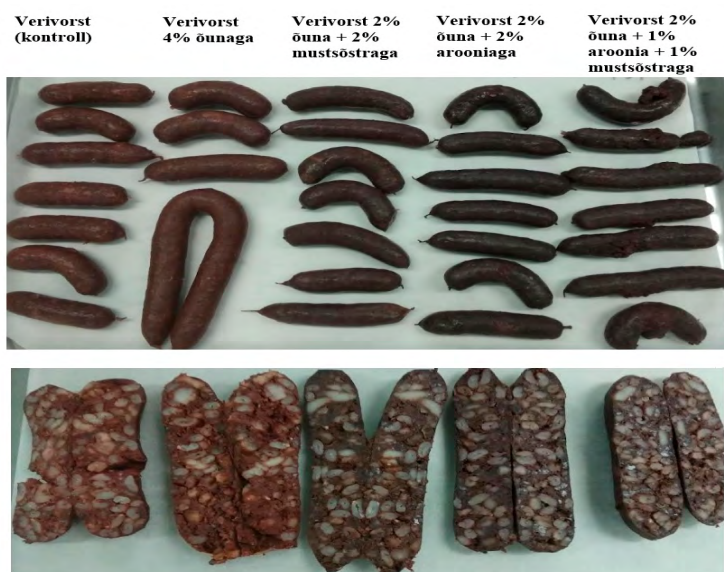
Kuna orgaanilisi happeid sisaldavad taimsed lisandid mõjutavad ka toidu pH-d ja veeaktiivsust ning seeläbi verivorstide säilimisega, siis uuriti käesolevas töös ka toote pH ja veeaktiivsuse dünaamikat. Verivorstide pH väärtused kogu 28-päevase säilitusperioodi jooksul on esitatud joonisel 2. Selgub, et kontrolltoote pH oli kõrgem (7,05–7,28) kui taimseid lisandeid sisaldavate verivorstide pH, mis jäi alla 7. Järelikult langetavad taimsed lisandid toote pH-d, mis võib omakorda pärssida ka mikroobide elutegevust. Kontrolltoote neutraalse pH-ga keskkond osutus aeroobsete mesofiilsete bakterite kasvuks sobivamaks. Kõikides verivorstiproovides tõusis pH esimese kuue päeva jooksul, olles seejärel 14. päevaks veidi langenud. Langus võib olla tingitud spetsiifilisest toidu riknemist põhjustava mikroobiota, nt piimhappebakterite, arvukuse tõusust, mida antud katses eraldi ei uuritud.

Veeaktiivsus oli kontrolltootes mõnevõrra kõrgem ( $a_w=0,982-0,987$ ) kui taimseid pulbreid sisaldavates verivorstides ( $a_w=0,976-0,982$ ). Taimsete pulbrite lisamine verivorstide koostisse mõnevõrra vähendab toote veeaktiivsust, mis omakorda pidurdab verivorstides leiduvate mikroobide kasvu. Toidu pikem säilimisaeg on tagatud eeskätt siis, kui veeaktiivsus jääb vahemikku 0,65–0,75 (Roasto ja Laikoja, 2017). Antud uurimuses kõige madalam veeaktiivsus ( $a_w=0,973-0,978$ ) määrati verivorstides, mis sisaldasid 2% õuna ja 2% arooniat.



**Joonis 2.** Verivorstide pH dünaamika 28-päevase säilitusperioodi jooksul.

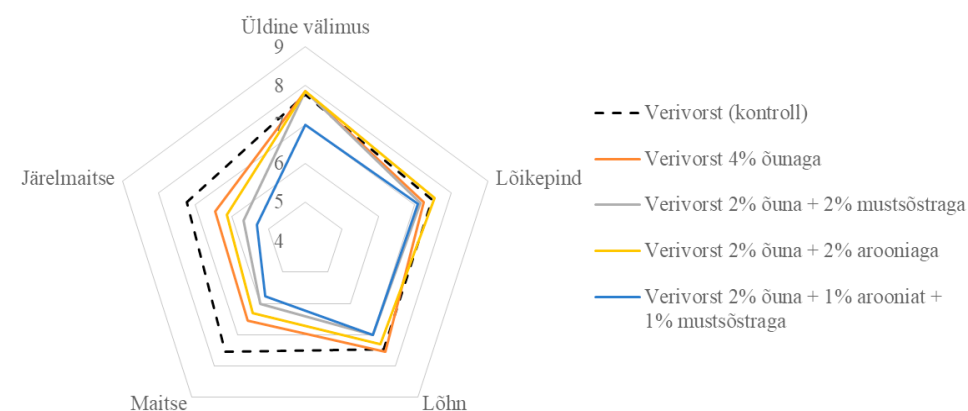
Taimsete lisandite mõju iseloomustamiseks verivorstide kvaliteedile on verivorstide visuaalne väljanägemine esitatud joonisel 3 ja sensoorse hindamise tulemused 9-pallisel skaalal joonisel 4. Kõikide verivorstide välimust hinnati 9-pallisel skaalal keskmiselt 7,7 punktiga, välja arvatud 2% õuna, 1% aroonia ja 1% mustsõstraga rikastatud verivorstid, mis said mõnevõrra madalama hinde (7 punkti). Positiivse aspektina täheldati eeskätt aroonia ja mustsõstraga rikastatud verivorstide lõikepinna tumedamat värvust võrreldes kontrolliga, mida peeti heaks näitajaks.



**Joonis 3.** Verivorstid enne küpsetamist (foto: Marek Tepper, 2022).

Erinevused verivorstide vahel ilmsid verivorsti maitse ja järelmaitse hindamisel. Kõrgeimaid hindeid (7,3–7,5 punkti) sai kontrolltoode, millele järgnesid meeldivuse poolest verivorst 4% õunaga (6,4–6,5), verivorst 2% õuna ja 2% arooniaga (6,2–6,3) ning verivorst 2% õuna ja 2% mustsõstraga (5,7–6). Sellest järeldub, et verivorsti koostises ühe või kahe erineva taimse lisandi kasutamine on organoleptiliselt vastuvõetav. Mõnevõrra madalamaid hindeid (5,4–5,6 punkti) kogus aga 2% õuna, 1% aroonia ja 1% mustsõstraga verivorst, mis võis tuleneda sellest, et kolme taimse lisandi kombinatsioon verivorsti koostises mõjutab liigselt toote organoleptilisi näitajaid. Verivorstide lõhna hinnetes olulisi erinevusi aga ei täheldatud.

Tarbimisharjumuste tõttu eelistatakse üldiselt traditsioonilist verivorsti, kuid aktsepteeritakse ka uusi maitseid ja värve. Võime loota, et teadmine, et verivorstide koostisesse on lisatud taimseid pulbreid, millel on tõendatud bioaktiivne potentsiaal (Rätsep jt., 2022), muudab lisandväärtusega verivorstid tarbija jaoks veelgi atraktiivsemaks.



**Joonis 4.** Verivorstide sensoorse hindamise tulemused 9-pallisel skaalal.

Tabelis 1 on esitatud taimseid lisandeid sisaldavate verivorstide ja kontrolltoote sõnalised hinnangud, mis saadi hindajatelt verivorstide sensoorse hindamise käigus. Kui kontrolli kirjeldati sõnadega „väga hea“, „klassikaline“ ja „ehe“, siis „väga heaks“ peeti ka verivorsti, mis sisaldas 4% õuna, eeskätt magushapuka maitse ja mahlase konsistentsi tõttu. Üldine hinnang ülejäänud verivorstidele oli samuti „hea“. Sellest võib järeldada, et verivorstide koostises sobivate taimsete lisandite segude kasutamisega on võimalik saavutada üldine rahulolu tootega.

Võrreldes kontrolltootega, mille maitset kirjeldati kui „tõeliselt maitsev“, siis on ootuspärane, et taimsed lisandid mõjutasid just verivorsti traditsioonilisi organoleptilisi näitajaid, mida tajusid ka hindajad. Kõige tugevamalt olid



tajutavad lisandite poolt antav kõrval- ja järelmaitse ning puudused (nt kleepuv või pudrune) konsistentsis neis verivorstides, mis sisaldasid 2% õuna, 1% arooniat ja 1% mustsõstart. Seda kinnitavad ka sensoorsel hindamisel hindajate antud madalamad punktid.

Muutusi verivorstide konsistentsis, eeskätt kuivust või pudrusust, täheldati ka teiste taimseid lisandeid sisaldavate verivorstide puhul. Pulbrid, mis seovad vaba vedelikku, võivad tekitada tootes pudruse või lausa kuiva efekti. Seetõttu tuleb taimsete lisandite kasutamisel arvestada ka nende mõju toote konsistentsile ja organoleptilistele omadustele. Tajutavat hapukat maitset tunnetati 2% õuna ja 2% mustsõstraga rikastatud verivorstis, mis võis olla tingitud toote madalamast pH-st (6,25–6,41) võrreldes teiste verivorstidega. Põhjus võib olla selles, et mustsõstar on juba oma olemuselt oluliselt happerikkam ja happelisem (tiitritavate hapete sisaldus 2,0–3,8%, pH 2,90–3,30), kui seda on näiteks aroonia (tiitritavate hapete sisaldus 0,8–1,6%, pH 3,30–3,80).

**Tabel 1.** Taimsete lisanditega rikastatud verivorstide ning toodete sõnalised hinnangud sensoorsel hindamisel.

Omadus	Verivorst (kontroll)	Verivorst 4% õunaga	Verivorst 2% õuna + 2% mustsõstraga	Verivorst 2% õuna + 2% arooniaga	Verivorst 2% õuna + 1% aroonia + 1% mustsõstraga
Üldine hinnang	„väga hea, klassikaline, ehe“	„väga hea“	„hea“	„hea“	„hea“
Maitse / lõhn	„väga hea, tõeliselt maitsev“	„magus, hapukas, kergelt kibe kõrvalmaitse“	„hapukas, tajutav kõrvalmaitse“	„maitselt magushapu, tajutava kõrvalmaitsega“	„omamoodi kõrvalmaitse, kibe järelmaitse“
Konsistents	„mahlane“	„mahlane, veidi jahune konsistents“	„kuiv konsistents“	„kleepuv, mahlane, pudrune konsistents“	„kuiv, kleepuv, pudrune konsistents“

Kui kõige kõrgem mikrobioloogiline kvaliteet säilis verivorstis 2% õuna- ja 2% aroonia-lisandiga, siis organoleptilisel hindamisel kirjeldati eeltoodud proovi kui „hea“, aga maitselt „magushapu, tajutava kõrvalmaitsega“ ning konsistentsilt „kleepuv, pudrune, aga mahlane“. Tulemus on ootuspärane, kuna iga lisand mõjutab paratamatult verivorsti füüsikalise-keemilise ja organoleptilise omadusi. Siiski said kõik taimseid pulbreid sisaldavad verivorstid üldhinnanguks vähemalt „hea“, mis näitab, et neid lisandeid on võimalik kasutada verivorstidele

lisandväärtuse andmiseks, säilitades seejuures vastuvõetavad organoleptilised näitajad.

## Kokkuvõte ja järeldused

Verivorstidele lisandväärtuse andmiseks on võimalik edukalt kasutada aiandusliku esmatootmise kõrvalsaadusi, antud juhul õuna-, aroonia- ja mustsõstra mahla pressjääkidest valmistatud pulbreid, mõjutades seeläbi verivorstide mikrobioloogilisi, füüsikalise-keemilisi ja organoleptilisi näitajaid. Käesolevas uuringus leiti, et mõnede taimsete lisandite kombinatsioonid on organoleptiliselt vastuvõetavamad ja pärsivad mikroobide kasvu efektiivsemalt kui teised lisandid. Antud uuringu põhjal võib kõige rohkem tööstuslikku potentsiaali olla 2% õuna ja 2% aroonia kombinatsioonil, kuna sellise koostisega verivorsti hea mikrobioloogiline kvaliteet, sobivad pH ja veeaktiivsus, piisavalt pikk säilimisaeg ning vastuvõetavad organoleptilised omadused võiksid vastata ka potentsiaalse tarbijaskonna ootustele.

## Tänu sõnad

Projekti TAIMLOOMTOIT (F200143PKPA) elluviimist toetasid Euroopa Regionaalarengu Fond ja Eesti Teadusagentuur läbi „Ressursside väärimise alase TA-tegevuse toetamise“ programmi ResTA14.

Uurimustööd on finantseerinud Eesti Teadusagentuur (PRG1441).

## Kasutatud kirjandus

- Biedrzycka, D., Amarowicz, R. Diet and health: Apple polyphenols as antioxidants. *Food Reviews International*, 2008, 24, 235–251.
- Borowska, S., Brzóska, M. Chokeberries (*Aronia melanocarpa*) and their products as a possible means for the prevention and treatment of noncommunicable diseases and unfavorable health effects due to exposure to xenobiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2016, 15(6), 982–1017.
- Burri, S.C.M., Ekholm, A., Bleive, U., Püssa, T., Jensen, M., Hellström, J., jt, Tornberg, E. Lipid oxidation inhibition capacity of plant extracts and powders in a processed meat model system. *Meat Science*, 2020, 162, 108033.
- Calderón-Oliver, M., López-Hernández, L. H. Food vegetable and fruit waste used in meat products. *Food reviews international*, 2022, 38(4), 628–654.
- EVS-EN ISO 6887-2:2017. Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products (ISO 6887-2:2017).



- EVS-EN ISO 4833-2:2013. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 2: Colony count at 30 degrees by the surface plating technique (ISO 4833-2:2013).
- EVS-ISO 21527-1:2009. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95 (ISO 21527-1:2008).
- Fierascu, R.C, Sieniawska, E., Ortan, A., Fierascu, I., Xiao, J. Fruits by-products – A source of valuable active principles. A short review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 8:319.
- Klavins, L., Kvišis, J., Nakurte, I. Klavins, M. Berry press residues as a valuable source of polyphenolics: Extraction optimisation and analysis. *LWT – Food Science and Technology*, 2018, 93, 583–591.
- Paunović, S.M., Mašković, P., Milinković, M. Phytochemical and antimicrobial profile of black currant berries and leaves. 2022, *Acta Agriculturae Serbica*, 27(53), 25–29.
- Raudsepp, P., Kaldmäe, H., Kikas, A., Libek, A.V., Püssa, T. Nutritional quality of berries and bioactive compounds in the leaves of black currants (*Ribes nigrum* L.) cultivars evaluated in Estonia. *Journal of Berry Research*, 2010, 1, 53–59.
- Roasto, M., Laikoja, K. Toidu säilimisaja määramine. I osa. 2017 (täiendused/parandused 2019), lk. 28.
- Roasto, M., Laikoja, K. Toidu säilimisaja määramine. II osa. Mikrobioloogilised näitajad toidugruppide kohta. 2020, lk. 13.
- Rätsep, R., Kaldmäe, H., Bleive, U., Sarv, V., Anton, D., Püssa, T., Roasto, M., Venskutonis, P.R. Mahlapressimisjääkide valmistatud pulbrite bioaktiivne potentsiaal. 2022. Konverentsi „Terve loom ja tervislik toit 2022“ artiklite kogumik (toim. M. Kass). Tartu: Eesti Maaülikool, lk 30–39.
- Zhang, H., Tsao, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 2016, 8, 33–42.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., Matar, C. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1618; doi: 10.3390/nu10111618

### ***Effect of plant additives on the shelf life and quality of blood sausages***

*Blood sausages are important in Estonian diet, so it could be of interest for industries to make the composition of blood sausages more natural and healthy. One possibility is to use plant additives, known for their rich content of bioactive substances, in the composition of blood sausages. In current study plant additives as chokeberry, blackcurrant and apple powders in the composition of the blood sausages were used and the quality characteristics of blood sausages - microbiological, chemical-physical and sensory properties were determined. It was found that some combinations of plant additives are more organoleptically acceptable and inhibit microbial growth more effectively than the others. Therefore, based on this study, the combination of 2% apple and 2% chokeberry may have more industrial usage potential in blood sausages compared to other tested plant additives, since this combination had good microbiological results, suitable pH and water activity, reasonable shelf life and acceptable organoleptical properties which could also meet the expectations of the potential consumers.*

**Keywords:** *chokeberry, blackcurrant and apple powders; microbial growth inhibition; pH; water activity; sensory properties.*

**Corresponding author:** [kadrin.meremae@emu.ee](mailto:kadrin.meremae@emu.ee) (Kadrin Meremäe)

## Valmistoidu nakatamiskatsed *L. monocytogenes*'ga

Mati Roasto<sup>1\*</sup>, Kadrin Meremäe<sup>1</sup>, Julia Koskar<sup>1</sup>, Terje Elias<sup>1</sup>, Reelika Rätsep<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetooli toiduhügieeni ja –ohutuse üksus

<sup>2</sup>EMÜ põllumajandus- ja keskkonna instituut, aianduse õppetool, Polli aiandusuuringute keskus

<sup>3</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, ERA õppetool VALORTECH

\*[mati.roasto@emu.ee](mailto:mati.roasto@emu.ee)

### Stendiettekande kokkuvõte

Stendiettekanne annab ülevaate *Listeria monocytogenes*'e olulisusest valmistoitude toiduohutuse tagamisel ning taimsete lisandite mõjust tema kasvule küpsetatud hakklihatoodes.

*L. monocytogenes*'t peetakse töödeldud jahutatud toitude puhul üheks kõige ohtlikumaks toidupatogeeniks, kuna see on võimeline kasvama ka madalatel temperatuuridel (-1,5 °C kuni +3 °C) ning võib põhjustada inimestel raskekujulist haigust listerioosi.

Nakatamiskatse (ingl *Challenge test*) eesmärk on hinnata olulise mikroorganismi kasvu konkreetsetes toidus säilitades toitu eelmääratletud säilitamistingimustel. Valmistoitudele on EL-s kehtestatud toiduohutuskriteeriumid *L. monocytogenes*'e suhtes. Valmistoitudes, mille puhul on arvuline kriteerium lubatud, ei tohi *L. monocytogenes*'e arvukus kogu toidu säilimisaja jooksul ületada 100 pmü-d (pesa moodustavat ühikut) grammis toidus. Toidukäitlejad, kes toodavad pika säilimisajaga valmistoite, peavad säilimisaja määramisel arvestama ka *L. monocytogenes*'st tuleneva ohuga, mistõttu on toidukäitlejad huvitatud nii mudeldamise (*Listeria* kasvu prognoosimine matemaatiliste mudelite abil) kui ka nakatamiskatsete läbiviimisest.

Antud uuringus kasutati taimse materjalina puuviljade, marjade või köögiviljade töötlemise kõrvalsaadusi, mis konvektsioon- või külmkuivatati ja lisati seahakklihalepulbrina. Pulbridsegati ühtlaselt hakklihase ja vormiti lihapallideks, mis küpsetati, seejärel jahutati ning säilitati külmkapis temperatuuril  $7 \pm 1$  °C.

Analüüsid tehti esimesel (toidu valmistamise päev), kuuendal ja 12. päeval. Kontrollproovi (ilma ühegi lisandita) ja taimsete lisanditega toiduproovide analüüsitulemuste võrdlemine näitas, et taimepulbritel on *L. monocytogenes*'e kasvu pidurdav mõju, eriti rabarberil (individuaalselt) ning õuna-, rabarberi- ja tomatipulbri segul. Siiski ei olnud *L. monocytogenes*'e kasv taimsete lisanditega hakklihatoodes piisavalt pidurdatud.

Täiendatud retseptiga valmistoodete nakatamiskatse uus katseseeria on planeerimisel. Selle eesmärgiks on kombineerida erinevate toidus mikroorganismide kasvu mõjutavate teguritega, mis võimaldaks täielikult peatada *L. monocytogenes*'e kasvu taimsete lisanditega väärindatud liha- ja/või kalatoodes.

## TERVE LOOM

Esitatud suuliste ettekannetena

## Somaatiliste rakkude eristamine – uus võimalus Eesti piimakarjakasvatajatele

Kaivo Ilves<sup>1,2\*</sup>, Kalle Pedastsaar<sup>2</sup>, Tanel Kaart<sup>1</sup>, Haldja Viinalass<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, tõuaretuse ja biotehnoloogia õppetool

<sup>2</sup>Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS

\*[kaivo.ilves@emu.ee](mailto:kaivo.ilves@emu.ee)

Traditsioonilise jõudluskontrolli eesmärk oli veiste piimajõudluse mõõtmine, mistõttu jõudluskontrolli laborid määrasid piimast peamiselt piimarasva- ja piimavalgusisaldust, hiljem somaatiliste rakkude üldarvu ja karbamiidi sisaldust. Tehnoloogia ja loomakasvatuse areng loovad uusi võimalusi informatsiooni kasutamiseks ning tänapäevane piimaveiste jõudluskontroll on ajas muutunud laiapõhjalisemaks. Tänu kaasaegsetele piimaanalüsaatoritele on Eesti jõudluskontrollisüsteemis võimalik eristada, kui suure osa moodustavad somaatiliste rakkude üldarvust (SRA) polümorftuumalised neutrofiilid ja lümfotsüüdid. Antud osakaal on defineeritud kui somaatiliste rakkude eristamine (SRE) ja see aitab täpsemalt hinnata iga looma udaraterwise seisundit. Kui varem liigitati lehmad SRA alusel terveteks ja haigeteks, siis täiendav SRE võimaldab jagada lehmad nelja gruppi. Niisiis jaotab Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS piimalehmad lähtuvalt SRA-st ja SRE-st järgmiselt: A) terved (SRA ≤ 150 000 rakku/ml ja SRE ≤ 65%); B) oht haigestuda (SRA ≤ 150 000 rakku/ml ning SRE > 65%); C) tõenäoliselt nakatunud (SRA > 150 000 rakku/ml ja SRE > 65%); D) tõenäoliselt kroonilise udarapõletikuga (SRA > 150 000 rakku/ml ja SRE ≤ 65). Esmaste analüüside põhjal on leitud seos piimajõudluse ning SRA ja SRE alusel moodustatud gruppide vahel.

## Differential somatic cell count in milk - a new challenge for Estonian dairy breeders

The aims and services of traditional dairy herd improvement systems have changed and there are much more new possibilities nowadays due to new technologies. Somatic cell count (SCC) in milk has been used as an indicator for mastitis and as a parameter in udder health management programmes. One of the new parameters used in Estonia is differential somatic cell count (DSCC, representing the combined proportion of polymorphonuclear neutrophils and lymphocytes as a percentage of total SCC). The combination of SCC and DSCC is a new approach to categorize cows in four groups according to their udder health: A) healthy (SCC  $\leq$ 150,000 cells/mL and DSCC  $\leq$ 65%); B) suspicious (SCC  $\leq$ 150,000 cells/mL and DSCC  $>$ 65%); C) mastitis (SCC  $>$ 150,000 cells/mL and DSCC  $>$ 65%); D) chronic mastitis (SCC  $>$ 150,000 cells/mL and DSCC  $\leq$ 65%). Initial studies have demonstrated changes in performances of dairy cows depending on their udder health status as defined based on the combination of SCC and DSCC.

**Keywords:** dairy cow, differential somatic cell count, udder health, mastitis

Corresponding author: [kaivo.ilves@emu.ee](mailto:kaivo.ilves@emu.ee) (Kaivo Ilves)

## Süsteemne põletik vastsündinud mäletsejalistel – põhjused ja tagajärjed

Marina Loch<sup>1\*</sup>, Elisabeth Dorbek-Kolin<sup>2</sup>, Kristel Peetsalu<sup>1</sup>, Tarmo Niine<sup>2</sup>, Toomas Orro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, kliinilise veterinaarmeditsiini õppetool

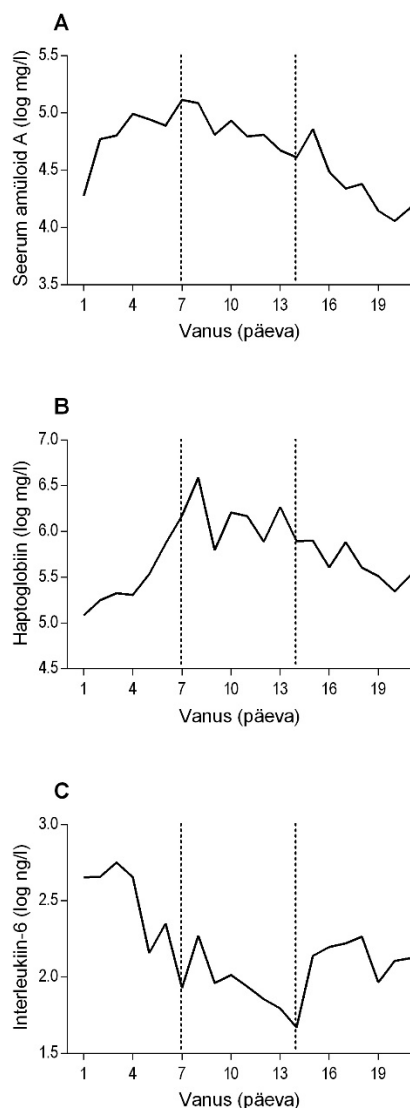
<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse bio- ja populatsioonimediitsiini õppetool

\*[marina.loch@emu.ee](mailto:marina.loch@emu.ee)

### Sissejuhatus

Sünniprotsessis tekib keskkonnavahetuse tõttu looma organismis stress, mis väljendub tema immuunsüsteemis põletikumarkerite interleukiinide (IL) ja ägeda faasi valkude (ingl *acute phase proteins*, APP-d) kontsentratsioonide tõusuna. Stressi, koekahjustuste ja nakkuste tagajärjel vabastavad valvurrakud, näiteks makrofaagid, proinflammatoorseid tsütokiine, sh IL-6, mis omakorda käivitavad APP-de sünteesi maksas ja vähemal määral ka paiksetes kudedes (Baumann ja Gauldie, 1994; Marchini jt, 2000). See protsess, mida nimetatakse ägeda faasi vastuseks (ingl *acute phase response*, APR), on vastsündinud looma loomuliku immuunsuse osa, millele loom tugineb, kuna omandatud immuunsus veel ei toimi täielikult (Cortese, 2009). Mäletsejaliste tähtsamad APP-d on seerum amüloid A (SAA) ja haptoglobiin (Hp), mille kontsentratsioonid tõusevad põletiku ja stressi tõttu märgatavalt ja aitavad kaasa patogeenide kõrvaldamisele (Cecilianani jt, 2012; Piccione jt, 2012; Tothova jt, 2014). APP-sid ja tsütokiine kasutatakse mittespetsiifiliste põletikumarkeritena (Schrödl jt, 2016). Vastsündinud põhjapõdravasikatel, piima- ja lihaveisevasikatel ning talledel on esimesel elukuul täheldatud IL-6, SAA ja Hp kontsentratsioonide kõikumisi (Orro jt, 2006; Seppä-Lassila jt, 2017; Niine jt, 2018; Peetsalu jt, 2022). Üldiselt võib APP-de kontsentratsioonide tõus esineda esimesel elunädalal, kõrgeimad kontsentratsioonid on leitud teisel elunädalal, ning langus ja stabiliseerumine toimub alates kolmandast elunädalast (joonis 1). Need kõikumised ei ole seotud infektsioonidega. Mis on aga kõikumise põhjus ja milline on selle tagajärg loomale?



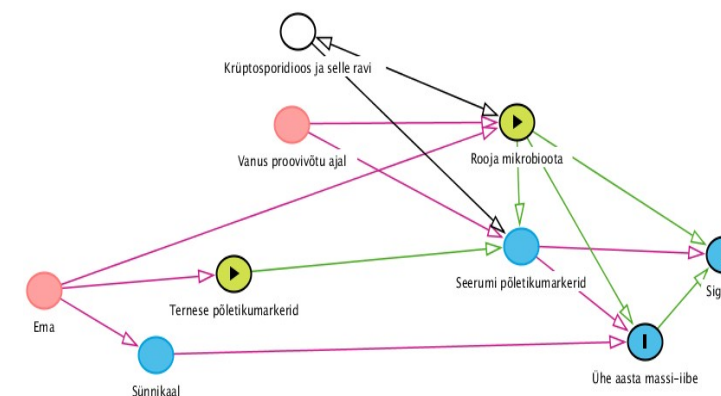


**Joonis 1.** Vasikate (n=143) seerum amüloid A (A), haptoglobiini (B), ja interleukiin-6 (C) kontsentratsioonid seerumis esimesel kolm elunädalal.

Peale emakast väljumist puutub sündiv loom kokku ema sünnitusteede, naha ja väljaheidete ning lauda mikroorganismidega, samuti ternespiimaga. Vastsündinud inimestel on leitud põletikumarkerite kontsentratsioonide erinevusi sõltuvalt sünnituse stressitasemest (abistatud või abistamata sünnitus) (Marchini jt, 2000; Yektaei-Karin jt, 2007), aga see ei päde piimalehmade vasikate suhtes (Peetsalu jt, 2022). Ternespiim sisaldab olulisi toiteväärtuslikke komponente, ema antikehi ja kasvufaktoreid, aga ka APP-sid ja tsütokiine, millel võib järglastele olla immunomoduleeriv toime (Barrington ja Parish, 2001). Lootekeskkond sisaldab

vaid minimaalset kogust mikroobset massi (kui üldse), seevastu sünnikanalis ja emakavälises keskkonnas puutub vastsündinu kokku kogu mikrobiotaga (Alipour jt, 2018). Samuti on näidatud, et soolestiku varajane mikrobiaalne koloniseerimine tõstab SAA kontsentratsiooni (Murdoch jt, 2019).

Järgnevalt võtame kokku mitme vaatlusuuringu tulemused. Uuringud on tehtud ühes piimaveise- ja ühes lambafarmis. Analüüsitud faktorite ülevaade ning põhjuslikud seosed on toodud joonisel 2.



**Joonis 2.** Põhjuslik diagramm, mis kirjeldab uuritud muutujate seost vastsündinud vasikate seerumi põletikumarkeritega ning tulevase massi-iibe ja sigivusega.

### Metoodika

Vasikad eraldati ema juurest kohe pärast sündi ja nad said kahe tunni jooksul kolm liitrit oma ema ternespiima. Vastsündinud talleid peeti koos uttedega ja pärast esimest imemist võeti ternespiimaproovid. Kõik järglased kaaluti kahe tunni jooksul pärast sündi. Vereproovid võeti kägiveenist erinevatel päevadel 1., 2. ja 3. elunädalal (vasikad) ning 3. ja 6. elupäeval (talled). SAA ja IL-6 kontsentratsioonid mõõdeti ELISA-ga ning Hp kontsentratsioon kolorimeetriliselt. Vasikatelt koguti vereproovidega samal ajal ka roojaproovid, millest määrati mikrobiota koostis sekveneerimise abil, kasutades 16S rRNA-d.

Statistiline analüüs viidi läbi STATA abil; seoste uurimiseks kasutati erinevaid regressioonimudeleid.

### Ternespiima mõju

Lehmade ternespiima IL-6 kontsentratsioonid olid positiivselt seotud vasikate seerumi IL-6 tasemega kõigi kolme esimese elunädala jooksul (n=143; Peetsalu jt, 2022). Sama positiivne seos leiti lamba ternespiima IL-6 ja talle seerumi IL-6 kontsentratsioonide vahel kolme ja kuue päeva vanuses (n=127). Kõrgem IL-6 tase ternespiimas toob kaasa kõrgema IL-6 taseme järglaste seerumis, mis võib

olla tingitud otsesest IL-6 imendumisest seedetraktis või endogeense tootmise stimuleerimisest.

Lehmade ternespiima SAA ja vasikate seerumi SAA kontsentratsioonid olid esimesel elunädalal negatiivselt seotud, hiljem seost enam ei täheldatud (Peetsalu jt, 2022). Ternespiima SAA võib pakkuda vasika soolestikule kohalikku kaitset, vähendades vajadust endogeense valgu tootmise järele. Lehma ternespiimas ja vasika seerumis leiduvad SAA isotüübid ei kattu omavahel, seega ei imendu ternespiimast pärit SAA otse vasikate soolestikku (Orro jt, 2008).

Talgedel leiti kolmandal elupäeval (kuid mitte hiljem) positiivne seos ternespiima ja seerumi SAA vahel, mis on kooskõlas varasemate tulemustega (Peetsalu jt, 2019), viidates vasikatest erinevale mehhanismile. Lamba ternespiima SAA ja talle kolmanda päeva seerumi IL-6 olid aga negatiivselt seotud. Võimalik, et talgedel esineb nõrgem põletikuvastus (millele viitab madal IL-6 kontsentratsioon) ternespiima SAA pakutava lokaalse kaitse tõttu, samas võib talgedel ternespiima SAA imenduda otse soolestikust verre. Veel pole teada, kas lammaste ternespiim ja talgede seerumi SAA on erinevat isotüüpi (Giagu jt, 2022).

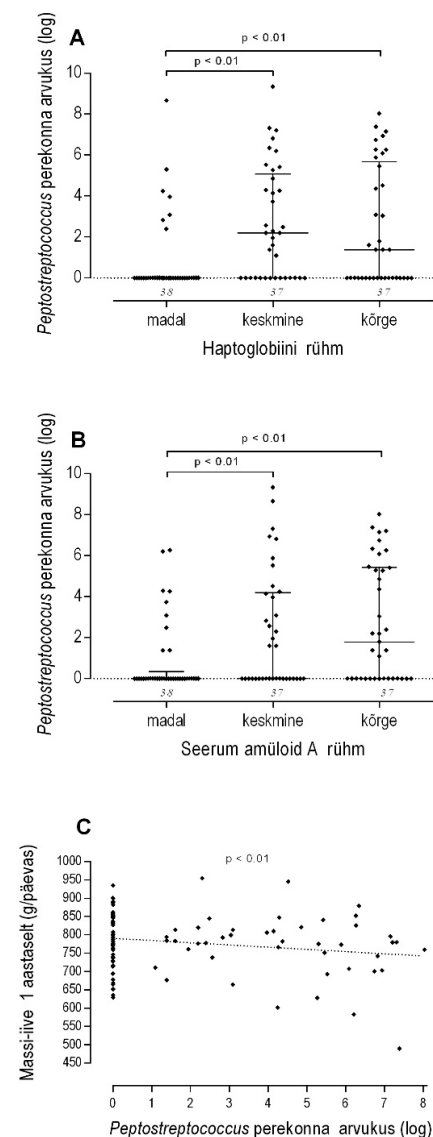
Ternespiima Hp kontsentratsioon ei ole seotud seerumi Hp kontsentratsiooniga vasikatel ega talgedel, ning see kinnitab ka varasemate uuringute tulemusi (Hernández-Castellano jt, 2015).

## Mikrobiota mõju

Ternespiima APP-d näivad järglaste APR-i enim mõjutavat esimesel elunädalal. APP-de kontsentratsioonid vasika veres saavutasid haripunkti teisel elunädalal, kusjuures üheks põhjuseks võib olla seedetrakti koloniseerimine mikroobide poolt (Kanther jt., 2014; Murdoch jt., 2019).

Rooja mikrobiota ja APP-de seoste selgitamiseks uuriti kahe nädalasi piimavasikaid (n=112). Perekond *Fusobacterium*'i arvukus roojas oli positiivselt seotud seerumi SAA kontsentratsiooniga (Dorbek-Kolin jt, 2022). Perekond *Collinsella* arvukus oli negatiivselt seotud SAA ja Hp kontsentratsioonidega veres. *Ruminococcus torques* rühma perekonna bakterite arvukus oli positiivselt seotud Hp kontsentratsiooniga veres. *Flavonifractor* perekonna bakterite arvukus oli negatiivselt seotud vasikate seerumi Hp kontsentratsiooniga. Perekond *Peptostreptococcus*'e arvukus oli positiivselt seotud nii SAA kui ka Hp kontsentratsioonidega vasikate vereseerumis (Dorbek-Kolin jt, 2022; joonis 3 A ja B). Need tulemused viitavad asjaolule, et piimavasikate seedetrakti teatud bakteriperekonnad võivad olla seotud suurenenud või vähenenud süsteemse põletikuvastusega. Seos bakteriperekonna arvukuse ja põletikumarkerite kontsentratsiooni vahel võib aja jooksul muutuda, kuna peremeesorganismi ja bakterite esmakordsel kokkupuutel võib vastus olla tugevam, kuid hiljem

väheneda. Esialgsed tulemused näitavad, et SAA kontsentratsioon veres on esimesel elunädalal positiivses korrelatsioonis rohkemate perekondadega kui teisel ja kolmandal nädalal, mis viitab sellele, et mõned neist perekondadest kohanevad ja muutuvad soolestikus kommensiaalse mikrobiota osaks.



**Joonis 3.** *Peptostreptococcus* perekonna arvukus kahe nädalaste vasikate roojas haptoglobiini seerum kontsentratsiooni rühmades (n=112; **A**), seerum amüloid A kontsentratsiooni rühmades (n=112; **B**), ja seos üheaastaste vasikate keskmise massi-iibega (n=95; **C**).

## Seosed tuleviku toodanguga

Põletikumarkerite vereseerumi kontsentratsioonidega seotud bakteriperekonnad võivad mõjutada vastsündinute arengut aktiveerunud põletikuvastuse kaudu, kutsudes esile muutusi immuunsüsteemi arengus (immunomodulatsioonis). Need muutused võivad mõjutada vasika arengut ja jõudlust hilisemas elus.

Analüüsi seoseid vasikate esimese kolme elunädala jooksul seerumis mõõdetud põletikumarkerite kontsentratsioonide ning esimese laktatsiooni aegse jõudluse ja tervise vahel (n=95). Esimese elunädala IL-6 ja TNF- $\alpha$  kontsentratsioonid vereseerumis olid positiivselt seotud reproduktiivprobleemide (endometriit, platsenta peetus, abort) esinemisega esimesel laktatsioonil. Esimese elunädala IL-6 kontsentratsioon oli positiivselt seotud ka uuslõpsi perioodiga.

Teise elunädala SAA, Hp ja IL-6 kontsentratsioonid vereseerumis olid positiivselt seotud uuslõpsi perioodiga. Teise elunädala seerumi Hp kontsentratsioon oli negatiivselt seotud ühe aasta keskmise ööpäevase kaalutõusuga, ning teise ja kolmanda elunädala seerumi SAA kontsentratsioon oli positiivselt seotud veise vanusega esimesel poegimisel. Kokkuvõtvalt võib väita, et põletikumarkerite kontsentratsioonid veise esimesel kolmel elunädalal on seotud esimese laktatsiooni tulemuslikkusega, mis on tulevaste laktatsioonide ja produktiivse eluea hea näitaja (Mendes jt, 2021). Nende markerite kõrgemad kontsentratsioonid võivad olla seotud vähem soodsate toodangunäitajatega kui madalamad kontsentratsioonid, kuigi APR-i kontsentratsioon näib olevat füsioloogiline reaktsioon sünniprotsessi, keskkonnamuutuse ja mikrobioota kolonisatsiooni suhtes. See võib kajastada ka maksafunktsiooni algust ja moodustada olulise osa immuunsüsteemi arengust, mis mõjutab tulevase immuunvastuseid ja ka looma kaalutõusu.

Sellise immuunsüsteemi nn praimimise (ingl *immune priming*) põhjuseks võib olla teatud bakteriperekondade rohkus, mis võivad mõjutada põletikumarkerite kontsentratsiooni seerumis ja seega oma mõju kaudu APR-ile mõjutada peremeesorganismi jõudlust.

Perekond *Peptostreptococcus*'e arvukus, mis oli vasikate teisel elunädalal positiivselt seotud Hp ja SAA kontsentratsioonidega seerumis, oli samuti negatiivselt seotud massi-iibega kuni ühe eluaastani (joonis 3 C). Selle bakteriperekonna suur arvukus võib seega põhjustada Hp sünteesi suurenemist ja pikemas perspektiivis väiksemat kaalutõusu võrreldes loomadega, kellel oli perekond *Peptostreptococcus*'e väiksem arvukus ja seega Hp seerumi madalam kontsentratsioon. Esialgsed andmed viitavad sellele, et ka teised bakteriperekonnad kasutavad sarnast mehhanismi. Perekond *Collinsella*, mis on seotud APR vähenemisega teisel elunädalal, oli samuti negatiivselt seotud uuslõpsi perioodi pikkusega. Selle perekonna suur arvukus võib seega

tähendada vähem põletikulist reaktsiooni ja pikemas perspektiivis paremat paljunemisvõimet.

## Kokkuvõte ja järeldused

Põletikumarkerite kontsentratsioonide kõikumine vereseerumis vastsündinu perioodil ei pruugi viidata patoloogiale, vaid näitab pigem füsioloogilist emakavälise keskkonnaga kohanemise protsessi. Samas võib nende markerite kõrgem kontsentratsioon veres olla seotud looma halvema sooritusvõimega hilisemas elus võrreldes isenditega, kellel on madalamad põletikumarkerite kontsentratsioonid. Seerumimarkerite kontsentratsioonid esimesel elunädalal on mõjutatud ternespiima komponentidest; teisel elunädalal aga mikrobioota koloniseerimise protsessist. Teatud bakteriperekonnad mõjutavad peremeesorganismi jõudlust, moduleerides põletikuvastust ja seega immuunsüsteemi „praimimist“.

## Tänu sõnad

Uuringud on läbi viidud projekti IUT8-1 raames. Täname Helsingi ülikooli osakonda *Developmental interactions* ja farmide juhte koostöö eest, ning Ülle Sihverit keelekorrektuuri eest.

## Kasutatud kirjandus

- Alipour, M.J., Jalanka, J., Pessa-Morikawa, T., Kokkonen, T., Satokari, R., Hynönen, U., Iivanainen, A., Niku, M., 2018. The composition of the perinatal intestinal microbiota in cattle. *Sci. Rep.* 8.
- Barrington, G.M., Parish, S.M., 2001. Bovine neonatal immunology. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 17, 463–476.
- Baumann, H., Gauldie, J., 1994. The acute phase response. *Immunol. Today* 15, 74–80.
- Ceciliani, F., Ceron, J.J., Eckersall, P.D., Sauerwein, H., 2012. Acute phase proteins in ruminants. *J. Proteomics.* 75, 4207–4231.
- Cortese, V.S., 2009. Neonatal Immunology. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 25, 221–227.
- Dorbek-Kolin, E., Husso, A., Niku, M., Loch, M., Pessa-Morikawa, T., Niine, T., Kaart, T., Iivanainen, A., Orro, T., 2022. Faecal microbiota in two-week-old female dairy calves during acute cryptosporidiosis outbreak – Association with systemic inflammatory response. *Res. Vet. Sci.* 151, 116–127.
- Giagu, A., Penati, M., Traini, S., Dore, S., Addis, M.F., 2022. Milk proteins as mastitis markers in dairy ruminants - a systematic review. *Vet. Res. Commun.* 46, 329–351.

- Hernández-Castellano, L.E., Argüello, A., Almeida, A.M., Castro, N., Bendixen, E., 2015. Colostrum protein uptake in neonatal lambs examined by descriptive and quantitative liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Dairy Sci.* 98, 135–147.
- Kanther, M., Tomkovich, S., Xiaolun, S., Grosser, M.R., Koo, J., Flynn, E.J., Jobin, C., Rawls, J.F., 2014. Commensal microbiota stimulate systemic neutrophil migration through induction of Serum amyloid A. *Cell. Microbiol.* 16, 1053–1067.
- Marchini, G., Berggren, V., Djilali-Merzoug, R., Hansson, L.-O.O., 2000. The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. *Acta Paediatr. Int. J. Paediatr.* 89, 1082–1086.
- Mendes, L.B., Coppa, M., Rouel, J., Martin, B., Dumont, B., Ferlay, A., Espinasse, C. and Blanc, F., 2021. Profiles of dairy cows with different productive lifespan emerge from multiple traits assessed at first lactation: the case of a grassland-based dairy system. *Livest. Sci.* 246.
- Murdoch, C.C., Espenschied, S.T., Matty, M.A., Mueller, O., Tobin, D.M., Rawls, J.F., 2019. Intestinal serum amyloid a suppresses systemic neutrophil activation and bactericidal activity in response to microbiota colonization. *PLoS Pathog.* 15.
- Niine, T., Peetsalu, K., Tummeleht, L., Kuks, A., Orro, T., 2018. Acute phase response in organic lambs associated with colostrum serum amyloid A, weight gain, and *Cryptosporidium* and *Giardia* infections. *Res. Vet. Sci.* 121, 117–123.
- Orro, T., Nieminen, M., Tamminen, T., Sukura, A., Sankari, S., Soveri, T., 2006. Temporal changes in concentrations of serum amyloid-A and haptoglobin and their associations with weight gain in neonatal reindeer calves. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 29, 79–88.
- Orro, T., Jacobsen, S., LePage, J.P., Niewold, T., Alasuutari, S., Soveri, T., 2008. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *Vet. J.* 176, 182–187.
- Peetsalu, K., Tummeleht, L., Kuks, A., Orro, T., 2019. Serum amyloid A and haptoglobin concentrations in relation to growth and colostrum intake in neonatal lambs. *Livest. Sci.* 220, 217–220.
- Peetsalu, K., Niine, T., Loch, M., Dorbek-Kolin, E., Tummeleht, L., Orro, T., 2022. Effect of colostrum on the acute-phase response in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 105, 6207–6219.
- Piccione, G., Casella, S., Giannetto, C., Giudice, E., Fazio, F., 2012. Utility of acute phase proteins as biomarkers of transport stress in ewes. *Small Rumin. Res.* 107, 167–171.
- Schrödl, W., Büchler, R., Wendler, S., Reinhold, P., Muckova, P., Reindl, J., Rhode, H., 2016. Acute phase proteins as promising biomarkers: Perspectives and limitations for human and veterinary medicine. *Proteomics - Clin. Appl.* 10, 1077–1092.
- Seppä-Lassila, L., Eerola, U., Orro, T., Härtel, H., Simojoki, H., Autio, T., Pelkonen, S., Soveri, T., 2017. Health and growth of Finnish beef calves and the relation to acute phase response. *Livest. Sci.* 196, 7–13.

Tothova, C., Nagy, O., Kovac, G., 2014. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: A review. *Vet. Med. (Praha)*. 59, 163–180.

Yektaei-Karin, E., Moshfegh, A., Lundahl, J., Berggren, V., Hansson, L.-O., Marchini, G., 2007. The stress of birth enhances in vitro spontaneous and IL-8-induced neutrophil chemotaxis in the human newborn. *Blackwell Munksgaard Pediatr Allergy Immunol* 18, 643–651.

### ***Systemic inflammation in newborn ruminants: adaptation to extrauterine life***

*After birth, the concentrations of inflammatory markers fluctuate in the serum of ruminants: Serum amyloid A (SAA), haptoglobin (Hp), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor alpha (TNF-α) rise after birth, peak at around two weeks of age, and decrease and stabilize in the third week. Here we summarized research investigating the causes behind this phenomenon and possible consequences for the animals. As these inflammatory markers can be found in colostrum, this might influence their concentration in offspring serum.*

*IL-6 in colostrum and calf serum was positively associated throughout the three weeks, and on days three and six in lambs. SAA in cow colostrum was negatively associated with SAA in calf serum in the first week of life, but a positive association has been found in sheep.*

*Higher concentrations of Hp and SAA during the second week of life are associated with lower weight gain of cows up to one year of age, higher age at first calving, and longer calving-conception interval. IL-6 concentrations of the first week of life are positively associated with risk of reproductive diseases in the first lactation and with calving-conception interval.*

*Additionally, microbiota colonization can have an impact on inflammatory response. Abundances of certain bacterial genera in feces of the second week of life are associated with inflammatory marker concentrations in serum and also with first lactation performance. Specifically, *Peptostreptococcus* abundance was associated with increased concentrations of SAA and Hp in the second week of life and with decreased average daily weight gain in the first year of life.*

*The fluctuations in inflammatory marker concentrations during the neonatal period may not be a sign of pathologic events, but rather of physiological adaptation processes to the extrauterine environment, but higher concentrations of the markers may be related to worse performance later in life compared to*



animals with lower concentrations. The serum marker concentrations in the first week of life seem to be influenced by the colostrum components; in the second week of life by microbiota colonization. Certain microbial genera may have an influence on host performance by modulating the inflammatory response and thus “priming” the immune system.

**Keywords:** newborn ruminant, acute phase response, microbiota, first lactation performance

Corresponding author: [marina.loch@emu.ee](mailto:marina.loch@emu.ee) (Marina Loch)

## Palaviku tuvastamine piimaveiste vasikatel tehiskärvivõrkude ja nahaaluse mikrokiibiga

Tarmo Niine<sup>1\*</sup>, Els Rusi<sup>2</sup>, Ants Kavak<sup>2</sup>, Rait Rand<sup>3</sup> ja Hardi Tamm<sup>4</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, Veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetool

<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, Kliinilise veterinaarmeditsiini õppetool

<sup>3</sup>Tervistehnoloogiate Arenduskeskus AS

<sup>4</sup>Piimaklaster MTÜ

\* [tarmo.niine@emu.ee](mailto:tarmo.niine@emu.ee)

### Sissejuhatus

Palavik on oluline keha homöostaasi tagamiseks vallanduv reaktsioon, mis sageli tekib vastusena mingile nakkushaigusele või põletikuprotsessile. Kehatemperatuuri olulist muutust saab kasutada diagnostilisel eesmärgil, et tuvastada võimalikke viirus- või bakteriaalseid nakkusi, sest palavikureaktsioon tavaliselt eelneb kliinilistele tunnustele (Timsit jt, 2011). Palavikulise kehatemperatuuri piirmääraks nii täiskasvanud kui noortel piimaveistel loetakse kehatemperatuuri üle vahemiku 39,4–39,7 °C (Burfeind jt, 2012). Samas on oluliseks probleemiks kehatemperatuuri mõõtmisel selle toiminguga invasiivsus: nimelt saab parima tulemuse kasutades digitaalset termomeetrit, mis tuleb sisestada pärasoolde (McGuirk, 2008). Selleks tuleks aga loom fikseerida ja kui ühes sulus võib olla kümneid loomi, siis kõikide nende kraadimine on tööjõumahukas ettevõtmine. Vaatluse teel veise tervise hindamine ei ole samuti täpne, sest evolutsioonilise saakloomana püüavad nad varjata oma haigestumist, mistõttu terviseseisundi hindaja võib haigestumise tuvastamisel kergesti eksida (Berman jt, 2021).

Selleks, et lihtsustada või automatiseerida veise kehatemperatuuri mõõtmist, on katsetatud erinevaid tehnilisi lahendusi nagu näiteks kehapinna termograafia (Hoffmann jt, 2013), vaginaalselt implanteeritud juhtmevabad sensorid (Morais jt, 2006), vatsa-võrkemiku sensorbool (Knauer jt, 2016) kuulmekanali (McCorkell jt, 2014) ja nahaalne implantaat (Lee jt, 2016). Kõigil neil meetoditel on omad

puudused, mistõttu on loomakasvatustes ikkagi domineerivale kohale jäänud digitaalse termomeetri kasutamine.

Antud uurimistöö eesmärgiks oli uurida, kui täpselt saab palavikku tuvastada algoritmiga, mis kasutab tehis-närvivõrgu poolt tuletatud kehatemperatuuri tulemusi. Algoritmi poolt saadud tulemusi kontrolliti rektaalselt mõõdetud kehatemperatuuriga, mida peetakse kuldstandardiks.

### Uurimistöö metoodika

Uuring viidi läbi loomkatseprojekti loa nr 161 (05.02.2020; Maaeluministerium) raames. Katseloomadeks olid Lääne-Eestis paikneva vabapidamisega lüpsifarmi lehmvasikad (n=32) Vasikaid hoiti esimesel elukuul üksikboksides ja seejärel rühmasulgudes, kus nende söötmiseks kasutati automaatsööjtjat. Kõikidele katseloomadele teostati enne katsesse võtmist kliiniline läbivaatus, et hinnata nende tervislikku seisundit. Katseloomad, kellel tuvastati palavik (rektaalne temperatuur  $\geq 39,5$  °C) ja tugev kõhulahtisus (roe vesivedel ja tagumised jalad tugevalt roojaga mäardunud), jäeti katsegrupist välja (n=2).

Igale lehmvasikale paigaldati mikrokirurgilise meetodiga subkutaanselt mikrokiip. Spetsiaalselt terviseandmete kogumiseks disainitud mikrokiibid (täpsemalt: mikrokiipe sisaldav impantaat) koos neid juhtiva tarkvara ja seadmetega loodi projekti eelmises etapis. Mikrokiibid olid ampulli-kujulised (piklik kuju, läbimõõt 5 ja pikkus 50 mm). Mikrokiibi pealiskihiks oli kergesti desinfitseeritav ja ümbritsevaid kudesid mitteärritav keraamiline kapsel. Mikrokiip registreeris iga 20 minuti järel teda ümbritseva keskkonna ehk looma temperatuuri (0,1 °C täpsusega) ja edastas andmed raadioside abil läheduses asuvasse vastuvõtijaama. Koos väliskeskkonna temperatuuriga saatis jaam need omakorda automaatselt pilvepõhisesse andmebaasi. Jaamad asusid loomadest paarikümne meetri raadiuses. Kõik kiibid ja jaamad olid enne katset taadeldud (Metrosert AS).

Mikrokiibid paigaldati kolmes jaos: Etapp 1: 11.05.2022 (n=11), Etapp 2: 02.08.2022 (n=11) ja Etapp 3: 08.11.2022 (n=10), eesmärgiga koguda temperatuurandmeid erinevate aastaegade tingimustes. Artiklis analüüsiti tehis-närvivõrgu poolt tuletatud rektaalset temperatuuri ainult 1. ja 2. etapi loomadel, sest artikli kirjutamise ajaks olid viimasest etapist lisandunud loomad olnud katses liialt lühikest aega.

Katseloomadele teostati sedatsioon ja anesteesia enne mikrokirurgia teostamist, selleks süstiti *i.m.*  $\alpha 2$ -agonisti ksülasiini sisaldavat preparaati Xylapan inj 20 mg/ml (Vetoquinol Biowet Sp.z o.o) 0,1 mg/kg kehamassi kohta (ühe looma kohta 1 ml ravimit). Sarvede mügarikud eemaldati kuumaraua meetodil, selleks teostati eelnevalt lokaalanesteesia mõlemasse oimu piirkonda (3 ml prokaiini

lahust süstekohta) (Procamidor 20 mg/ml - Richter Pharma AG).

Implantateeritavad mikrokiibid desinfitseeriti eelnevalt etüülalkoholi ja isopropanooli lahusega (Erisan Allsept S – KiiltoClean OÜ). Mikrokiip paigaldati abaluu esisesse piirkonda ja seda ümbritsev ala pügati karvadest (ca 20 cm<sup>2</sup>) ning pesti 4% kloorheksidiindiglükonaadi lahusega (Hibiscrub - Mölnlycke Health Care group) puhtaid marlitampoone kasutades.

Järgnevalt teostati infiltratsioonianesteesia mikrokirurgia piirkonda, süstides prokaiini lahust (1 ml) naha alla lõikejoonele (Procamidor, 20 mg/ml - Richter Pharma AG). Steriilse skalpelliga tehti nahasse sisselõige, vältides sisselõike tegemist sügavamatesse subkutaansettesse nahakihtidesse. Mikrokiip paigaldati modifitseeritud trokaari (7x120 mm puust käepidemega trokaar - Kruise AB) kasutades, mille torkeots oli mikrokiibi vigastamise välistamiseks tõmbistatud. Operatsioonihaav suleti ühe ristõmblusega, kasutades resorbeeruvat õmblusmaterjali (Vicryl 2-0 FS-1 - Johnson and Johnson International). Suletud haava peale pihustati antimikroobset aerosooli (Pederipra Spray – Laboratorios HIPRS S.A.).

Valu vähendamiseks pärast protseduuride lõppu süstiti kõikidele katseloomadele nahaaluselt mittesteroidset põletikuvastast ravimit (1,2 ml meloksikaami looma kohta) (Emdocam 20 mg/ml - Emdoka bvba), lisaks üks kord päevas veelkahel järgneval päeval. Õmblused eemaldati 10.–14. päeval pärast operatsiooni.

Katseloomade tervislikku seisundit kuni nende kuue kuu vanuseni hindas (Wisconsini süsteem - (Anonymous, n.d.)) kord päevas farmitöötaja. Selle käigus mõõdeti ka iga looma rektaalne kehatemperatuur. Kõikide loomade raviepisoodid registreeriti farmitöötajate poolt.

Palaviku tuvastamiseks oli kasutusel esmane tehis-närvivõrgu lahendus, mida oli vaja kogutud andmete (mikrokiibi registreeritud temperatuur ja keskkonna temperatuur) abil „treenida“, et tuletada oletatav (ennustatav) rektaalne temperatuur. Närvivõrgu treenimine toimus jooksvalt andmete tekkimise ning kasutajate tagasiside põhjal. Treeninguks kasutati kõikide loomade mikrokiipide ja välistemperatuuri andmeid. Närvivõrgu poolt tuletatud andmed olid kättesaadavad läbi veebipõhise kasutajaliidese, mida sai jälgida ka farmi personal ja kus oli kuvatud katselooma palaviku tõenäosus (0–100%). Sekundaarse tulemusena esitati ka tehis-närvivõrgu poolt tuletatav katselooma rektaalne kehatemperatuur.

Palaviku tuvastamiseks loodi algoritm (Palaviku tõenäosus), mille väärtus võis olla 0 kuni 1 (0 = palaviku tõenäosus on 0%; 1 = palaviku tõenäosus = 100%). Palaviku tuvastamiseks oli kasutaja poolt vaja ette anda lävendväärtus (antud katses  $\geq 39,5$  °C [ennustatav rektaalne temperatuur]).

Antud uuringus valiti palaviku registreerimise piiriks tõenäosuse ületamine väärtusi 0,7 ja 0,9 või olemine võrdne 1-ga. Palaviku tõenäosuse arvutamiseks

liideti üksteisele järjestikuste tundide närvivõrgu poolt tuletatud temperatuurid kasutaja poolt ette antud piirväärtusest. Nt kui tund 1. temp = 39.6; tund 2. temp = 40.3, siis kokku oli erinevus piirväärtusest (39,5) vastavalt 0,1 ja 0,8 ning liitmisel saadi, et palaviku tõenäosuseks on 0,9.

Palaviku tuvastamise kuldstandardiks loeti digitaalse termomeetriga määratud rektaalne temperatuur, kui see oli  $\geq 39,5$  °C (Burfeind jt, 2012).

Algandmete analüüs toimus Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2016), RStudio (Posit team, 2022). ja Stata 17 (*Stata Statistical Software: Release 17*, n.d.) programme kasutades.

### Tulemused ja arutelu

Keskmine vanus katseloomadel etapiti kiibi sisestamisel oli 5,1, 4,8 ja 12 päeva. Kokku lasti tehis-närvivõrgul tuletada 18 looma kehatemperatuurid (Tabel 1).

**Tabel 1.** Rektaalsed temperatuurid ja tehis-närvivõrgu tuletatud mõõtmistulemused. Tehis-närvivõrk tuletas oletatava rektaalse temperatuuri mikrokiibi ja väliskeskonna temperatuuri baasil. Rektaalne temperatuur mõõdeti digitaalset termomeetrit kasutades vähemalt kord päevas.

Vasika nr	Keskmine temperatuur (°C)			Mõõtmistulemuse standardhälve (°C)			Mõõtmiste arv	
	Närvi-võrk	Rek-taalne	Mikro-kiip	Närvi-võrk	Rek-taalne	Mikro-kiip	Mikro-kiip	Rek-taalne
1	39.13	39.03	36.83	0.26	0.54	0.86	3,157	132
2	39.16	38.95	36.79	0.30	0.47	0.99	3,128	129
3	39.15	39.13	36.96	0.25	0.40	0.83	3,172	131
4	39.15	39.16	37.03	0.25	0.38	0.79	3,136	125
5	39.09	38.90	38.27	0.29	0.33	0.45	3,124	126
6	39.16	39.01	37.25	0.28	0.38	0.86	3,138	130
7	39.12	39.10	36.62	0.26	0.54	0.86	3,138	130
8	39.10	38.85	36.33	0.25	0.46	1.06	3,134	129
9	39.09	38.85	36.35	0.25	0.43	1.00	3,130	130
10	39.19	39.02	37.56	0.31	0.51	0.74	3,130	132
11	39.14	39.05	37.12	0.24	0.37	0.63	3,133	130
12	39.16	38.87	36.79	0.22	0.26	0.80	595	26
13	39.16	39.06	36.93	0.31	0.37	2.30	1,647	66
14	39.00	39.38	36.69	0.23	0.57	1.04	930	36
15	39.03	39.12	36.35	0.22	0.56	1.25	1,176	47
16	39.11	39.21	36.81	0.36	0.34	1.07	1,178	47
17	39.00	39.15	35.88	0.23	0.45	1.28	1,190	47
18	39.00	39.02	36.02	0.22	0.42	1.25	1,152	46

Palavik registreeriti (tõenäosus  $\geq 0,7$ ) 15 loomal 18-st. Kokku registreeriti 137 päeva, mil palaviku tõenäosus oli 1,0 (tabel 2).

**Tabel 2.** Keskmine rektaalne temperatuur, kui palaviku tõenäosus ületas etteantud piirmäära. Palaviku tuvastamise algoritmile oli määratud palaviku piirväärtuseks  $\geq 39,5$  °C närvivõrgu poolt tuletatud rektaalse temperatuuri puhul. Rektaalne temperatuuri mõõtmine toimus vähemalt ükskord ööpäevas.

Vasika nr	Keskmine rektaalse temperatuuri mõõtmise tulemus (°C) jaotatud Palaviku tõenäosuse kaupa			Rektaalsete temperatuuri mõõtmiste arv päeval mil vastav palaviku tõenäosuse piirmäär ületati (n)		
	$\geq 0,7$	$\geq 0,9$	1,0	$\geq 0,7$	$\geq 0,9$	1,0
1	39,44	39,77	39,90	13	7	6
2	39,33	39,33	39,34	24	24	23
3	39,42	39,54	39,54	11	7	7
4	39,50	39,47	39,47	7	6	6
5	39,15	39,17	39,17	15	14	14
6	39,13	39,14	39,19	28	25	23
7	39,83	39,94	39,90	14	11	10
8	38,88	39,00	38,93	11	9	7
9	39,19	39,18	39,43	10	4	3
10	39,37	39,41	39,43	22	19	17
11	39,16	39,16	39,24	10	9	5
12	-	-	-	0	0	0
13	39,17	39,17	39,17	6	6	6
14	40,20	40,20	40,20	2	2	2
15	-	-	-	0	0	0
16	39,37	39,37	39,37	7	7	7
17	39,13	39,35	39,00	3	2	1
18	-	-	-	0	0	0
<b>Kokku</b>	<b>39,30</b>	<b>39,35</b>	<b>39,37</b>	<b>183</b>	<b>152</b>	<b>137</b>

Tõenäosus, kui katseloomal registreeriti rektaalsel mõõtmisel palavik ( $\geq 39,5$  °C) ja samal ööpäeval palaviku tuvastamise algoritm tuvastas palaviku samuti oli  $\geq 0,7$  tõenäosuse puhul 30% (55/183),  $\geq 0,9$ , 31,5% (48/152) ja kui see oli võrdne 1,0-ga, siis 32% (44/137) (Tabel 3).

**Tabel 3.** Palaviku tuvastamine rektaalsel mõõtmisel ja algoritmiga arvutades. Loomad (n=3), kel palaviku algoritm palaviku ei tuvastanud, on tabelist välja jäetud. Palaviku tuvastamise algoritmi piirmääraks oli  $\geq 39,5$  °C.

Vasika nr	Päevade arv, mil registreeriti rektaalne temperatuur $\geq 39,5$ °C ja palaviku tõenäosus oli üle antud piirmäär			Kõikide rektaalse temperatuuri mõõtmiste arv päevades perioodil, mil palaviku tõenäosus ületas etteantud piirmäära		
	$\geq 0,7$	$\geq 0,9$	1,0	$\geq 0,7$	$\geq 0,9$	1,0
1	4	3	3	13	7	6
2	5	5	5	24	24	23
3	5	4	4	11	7	7
4	4	3	3	7	6	6
5	1	1	1	15	14	14
6	6	6	6	28	25	23
7	10	8	7	14	11	10
8	1	1	1	11	9	7
9	2	1	1	10	4	3
10	8	7	6	22	19	17
11	2	2	1	10	9	5
13	2	2	2	6	6	6
14	2	2	2	2	2	2
16	2	2	2	7	7	7
17	1	1	0	3	2	1
<b>Kokku</b>	<b>55</b>	<b>48</b>	<b>44</b>	<b>183</b>	<b>152</b>	<b>137</b>

### Kokkuvõte ja järeldused

Uurimistöö küsimus, kas palavikku saab tuvastada tehis-närvivõrgu poolt tuletatud kehatemperatuuri põhjal koostatud algoritmiga, ei andnud esimese kahe grupiga veel ühest vastust. Tehis-närvivõrgu tuletatud tulemuste kvaliteet sõltub treeninguks kogutud andmete hulgast, mistõttu on vajalik jätkata analüüsides tulevikus. Algoritmi pakutud võimalik palavik ja rektaalselt tuvastatud kõrge temperatuur ei langenud alati kokku. Selleks oli ilmselt mitmeid põhjuseid, mida on järgnevalt arutletud.

Palaviku või normaalsest kõrgema kehatemperatuuri registreerimine ühe mõõtmisega ühe ööpäeva jooksul iseenesest ei tähenda alati, et loomal ongi palavik, sest varasemates uuringutes oli kliiniliselt tervetel (ilma kliiniliste haigustunnusteta) loomadel samuti hüpertermiat tuvastatud (Kristula jt, 2001). Seega on võimalik, et loodud algoritm palaviku tuvastamiseks on liialt tundlik ja

vajaks täpsemat individualiseerimist. Lisaks oli antud uuringus valitud palaviku piirmääraks ainult üks väärtus, järgnevates uuringutes tuleks katsetada erinevate piirmääradega.

Palavik võib tekkida pika aja jooksul peale nakatumist haigustekitajaga, isegi kuni 100 tunni möödudes enne kliiniliste tunnuste teket (Timsit jt, 2011), kuid palaviku profiil sõltub haigustekitaja tüübist. Näiteks lipopolüsahhariide (LPS) sisaldava patogeeni puhul võib palaviku teke olla kiire ja kõrge (Plessers jt, 2015). Samas ei tohiks eeldada, et kõhulahtisust põhjustavad või hingamisteid tabandavate haigustekitajate patogeenes kulgeb identselt (McGuirk, 2008). Kuna käesolevas uuringus ei diagnoositud haigustekitajaid, siis võisid katseloomad nakatuda erinevate haigustekitajatega, millest tingituna erinesid tulemused indiviiditi. Lisaks viidi käesolev uuring läbi vaatluskatsena, et testida mikrokiibi võimekust tavapärares tootmistingimustes, mistõttu ei olnud võimalik kontrollida keskkonna tegureid, mis samuti võisid mõjutada katseloomi.

Veise kehatemperatuuri muutumise rütmi ööpäevas on seni väga vähe uuritud meetoditel, mis kestaks kauem kui paar nädalat või teostaks mõõtmisi tihedamini kui paari tunni järel (Lee jt, 2016). Samuti ei ole täpseid, eksperimentaalselt kinnitatud uuringuid, kus oleks veise kehatemperatuuri muutused tunni kaupa profileeritud vastavalt erinevatele muutujatele (nt erinevad haigustekitajad, keskkonna stressorid, söötmis-pidamistingimused jms). Ainuüksi vanus ja looma üksikboks või rühmasulus paiknemine võib oluliselt mõjutada ööpäevast temperatuuri rütmi (Breukers, 2022).

Võib oletada, et loomade individuaalsete erinevuste tõttu piirväärtused ja palaviku tõenäosuse algoritm hakkavad dünaamiliselt muutuma vastavalt tehis-närvivõrgule farmi poolt saabunud looma individuaalsele tagasisidele.

Tehis-närvivõrkude poolt tuletatud andmete kasutamine palaviku varajasel tuvastamisel omab suurt potentsiaali, kuid vajab edasisi uuringuid. Samuti vajab edasisi uuringuid veiste ööpäevane kehatemperatuuri rütm, mida kasutatud mikrokiipid nüüdsest ka täpsemalt võimaldavad teha.

### Tänuõnad

Käesolev uuring on läbi viidud Piimaklaster MTÜ tellimusel projekti 616118790023 raames Eesti maaelu arengukava 2014–2020 meetme 16.0 toel. Täname koostööpartnereid ja farmi personali igakülge abi eest.



## Kasutatud kirjandus

- Anonymous. (n.d.). *Calf Health Scoring Chart*. University of Wisconsin School of Veterinary Medicine. Retrieved January 16, 2023, from [https://fyi.extension.wisc.edu/heifermgmt/files/2015/02/calf\\_health\\_scoring\\_chart.pdf](https://fyi.extension.wisc.edu/heifermgmt/files/2015/02/calf_health_scoring_chart.pdf)
- Berman, J., Francoz, D., Abdallah, A., Dufour, S., & Buczinski, S. (2021). Evaluation of inter-rater agreement of the clinical signs used to diagnose bovine respiratory disease in individually housed veal calves. *Journal of Dairy Science*, *104*(11), 12053–12065. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20503>
- Breukers, T. (2022). *Assessing surgically implanted temperature sensors to measure body temperature in dairy calves during individual-and group period* [Master's thesis]. Eesti Maaülikool.
- Burfeind, O., Suthar, V. S., & Heuwieser, W. (2012). Effect of heat stress on body temperature in healthy early postpartum dairy cows. *Theriogenology*, *78*(9), 2031–2038. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.07.024>
- Hoffmann, G., Schmidt, M., Ammon, C., Rose-Meierhöfer, S., Burfeind, O., Heuwieser, W., & Berg, W. (2013). Monitoring the body temperature of cows and calves using video recordings from an infrared thermography camera. *Veterinary Research Communications*, *37*(2), 91–99. <https://doi.org/10.1007/s11259-012-9549-3>
- Knauer, W. A., Godden, S. M., & McDonald, N. (2016). Technical note: Preliminary evaluation of an automated indwelling rumen temperature bolus measurement system to detect pyrexia in preweaned dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *99*(12), 9925–9930. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10770>
- Kristula, M., Smith, B., & Simeone, A. (2001). The Use of daily postpartum rectal temperatures to select dairy cows for treatment with systemic antibiotics. *The Bovine Practitioner*, 117–124. <https://bovine-ojs-tamu.tdl.org/bovine/article/view/1641>
- Lee, Y., Bok, J. D., Lee, H. J., Lee, H. G., Kim, D., Lee, I., Kang, S. K., & Choi, Y. J. (2016). Body temperature monitoring using subcutaneously implanted thermo-loggers from holstein steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *29*(2), 299–306. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0353>
- McCorkell, R., Wynne-Edwards, K., Windeyer, C., Schaefer, A., Beal, M., Behiels, B., Boisvert, R., Boyer, S., Coutu, P., de Graff, I., Foster, S., Gibson, J., Gies, C., Goldsmith, D., Grant, C., Gunderson, A., Hewitt, J., Jones, K., Kippen, L., ... Zaari, S. (2014). Limited efficacy of Fever Tag® temperature sensing ear tags in calves with naturally occurring bovine respiratory disease or induced bovine viral diarrhoea virus infection. *Canadian Veterinary Journal*, *55*(7), 688–690.
- McGuirk, S. M. (2008). Disease Management of Dairy Calves and Heifers. In *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* (Vol. 24, Issue 1, pp. 139–153). <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.003>
- Microsoft Corporation. (2016). *Microsoft Excel*. <https://office.microsoft.com/excel>

- Morais, R., Valente, A., Almeida, J. C., Silva, A. M., Soares, S., Reis, M. J. C. S., Valentim, R., & Azevedo, J. (2006). Concept study of an implantable microsystem for electrical resistance and temperature measurements in dairy cows, suitable for estrus detection. *Sensors and Actuators, A: Physical*, *132*(1 SPEC. ISS.), 354–361. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2006.04.011>
- Plessers, E., Wyns, H., Watteyn, A., Pardon, B., de Backer, P., & Croubels, S. (2015). Characterization of an intravenous lipopolysaccharide inflammation model in calves with respect to the acute-phase response. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *163*(1–2), 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.11.005>
- Posit team. (2022). *RStudio: Integrated Development Environment for R* (2022.12.0.353). <http://www.posit.co/>
- Stata Statistical Software: Release 17. (n.d.). StataCorp LLC.
- Timsit, E., Assié, S., Quiniou, R., Seegers, H., & Bareille, N. (2011). Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses. *Veterinary Journal*, *190*(1), 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.09.012>

## ***Detection of fever in dairy cattle calves with artificial neural networks and subcutaneous microchip***

*Aim of the study was to investigate if artificial neural networks can be used to detect fever in dairy cattle calves. Novel subcutaneous microchips were implanted in each test animal and collected data was used in combination with environmental temperature data to train artificial neural networks. Study was performed in accordance of clinical trial permit no. 161 (05.02.2020; Estonian Ministry of Rural Affairs) in regular farm conditions.*

*Preliminary results indicated that rectally measuring fever temperature and neural networks prediction about potential fever did not always match. This may have several reasons. Available literature about the daily body temperature rhythm in cattle is scarce and have not been measured so far this precisely and extensively. Secondly, it is unclear how much individuality per animal plays role in final results. Nevertheless, these characteristics can now be studied in greater detail with the microchips used in current study. More data and time is needed to fine tune the artificial neural networks-based fever predictions. The use of predicted data computed by neural networks for early detection of fever has great potential, but also needs further research.*

**Keywords:** artificial neural networks, implant, fever prediction, dairy calves

Corresponding author: [tarmo.niine@emu.ee](mailto:tarmo.niine@emu.ee)

## Kärbsevklade söötmise mõju kesikute juurdekasvule

Varpo Vare<sup>1\*</sup>, Rünno Patune<sup>2</sup>, Ragnar Leming<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, söötmisteaduse õppetool

<sup>2</sup>Veskimäe PM OÜ

\*varpo.vare@student.emu.ee

### Sissejuhatus

Putukate söömisel ja söötmisel on väga pikk ajalugu, mistõttu ei saa esmapilgul väita, et see tegevus oleks kuidagi uudne või innovaatiline. Eelkõige läänemaailmas, sh Euroopas on aga erinevad harjumused, hügieeninormid, seadused jms takistanud siiani putukate laiaulatuslikumat kasutamist nii toidu kui söödana. Alates 2021. aasta septembrist on aga ELis lubatud kasutada teatud putukaid ka sea- või kodulinnusöödana (ELT, 2021). Tehistingimustes kasvatatud ja kõikides arengustaadiumites putukaid võib nüüd söödana kasutada nii elusal kui ka töödeldud kujul, nt putukajahuna (EP, 2023; PTA, 2021). Ogakärblane (*Hermetia illucens*) on kõige levinum tehistingimustes kasvatatud putukaliik, kelle vastseid on kasutatud erinevate loomaliikide söötmisel. Ogakärblase vastsete toitainete sisaldus võib olla väga varieeruv, aga enamasti on vastsete kuivaines kuni 35% rasva ja 50% toorproteiini ning see on kalajahule sarnase aminohappelise koostisega (Veldkamp ja Bosch, 2015). Sellest tulenevalt võivad putukatest valmistatud söödad saada peagi heaks alternatiivseks täienduseks kalajahule, sojašrotile jt proteiinsöötadele, mida seakasvatustes on pikka aega kasutatud. Vastseid kasutatakse alternatiivse proteiiniallikana lemmikloomade, kodulindude, sigade ning mitmete kalaliikide ja krevettide söödas (Gasco jt, 2019). Ka Eestis on viimasel ajal hakatud putukaid rohkem kasvatama ja ogakärblase vastsed ning nendest toodetud loomasöödad on meie turul juba saadaval. Traditsiooniliste piima- ja seafarmide kõrvale on kerkinud ka kilgi-, kärkse- ja vaglafarmid.

Käesoleva pilootuuringu peamine eesmärk oli hinnata kärksevklade söötmise mõju kesikute ööpäevasele massi-iibele.

### Metoodika

Söötiskatsed viidi läbi ühes Eesti tootmisfarmis, kus kasvatatakse kesikuid ja nuumikuid. Katsesse valiti kokku 618 ristandsiga, kelle keskmine kehamass katse

algul oli ligikaudu 20 kg. Katseloomad paigutati katsesulgudesse arvestusega, et igas sulus oleks kaheksa looma. Loomi peeti kogu katse jooksul ühes ja samas sulus ning nende kontrollkaalumine toimus sulgude kaupa. Katse alguses oli sulus põrandapinda ca 1,2 m<sup>2</sup> looma kohta. Sead jagati nelja katsegruppi ja neile söödeti vastavalt kas kõrge proteiinisaldusega kuivsoöta (KP, 17% TP, loomi grupis 242), vähendatud proteiinisaldusega kuivsoöta (VP, 15% TP, loomi grupis 248), kõrge proteiinisaldusega kuivsoöta, millele lisati kärksevastseid (KP+V, loomi grupis 64) või vähendatud proteiinisaldusega kuivsoöta, millele lisati vastseid (VP+V, loomi grupis 64). Vastsete kuivaine sisaldas 35% proteiini ja 47% rasva. VP sööt sisaldas umbes 20% vähem sojašrotti ja 15–20% rohkem rapsikooki kui KP sööt (tabel 1). Kõikidele söötadele lisati mineraalelemente, vitamiine ja aminohappeid. KP+V ja VP+V grupi sigadele söödeti esimesel katseperioodil (Kesik 1, 28 päeva) täiendavalt 25 g ja teisel katseperioodil (Kesik 2, 33 päeva) 50 g elusaid vastseid ühe sea kohta päevas. Vastseid söödeti kaks korda päevas. Pilootuuringu andmed on statistiliselt analüüsimatud ja tulemusi tuleb pidada esialgseteks.

**Tabel 1.** Katsesöödade koostis

Söödad (%)	Kõrge proteiinisaldusega kuivsoöt (KP)		Vähendatud proteiinisaldusega kuivsoöt (VP)	
	Kesik 1	Kesik 2	Kesik 1	Kesik 2
Nisu	35,9	31,8	50	45,2
Oder	36,2	44,1	15	25
Tritikale	-	-	5	10
Mais	-	-	8,7	-
Kaer	-	-	-	6,4
Sojašrott 45,5	13,8	11,5	11	8,7
Rapsikook	7	7	5	5

### Tulemused ja arutelu

Katse esimesel ehk Kesik 1 perioodil (tabel 2) oli vastsetega sööditud sigade keskmine ööpäevane massi-iive väiksem kui sigadel, kes tarbisid ainult kuivsoöta. Kõige väiksem oli juurdekasv KP+V grupi ja suurim VP grupi sigadel. Sead sõid elusvastseid väga hea isuga ja sööda sensoorsed omadused ei olnud arvatavasti väiksema juurdekasvu põhjustajaks. Vastsetega sööditud sigade keskmine kehamass perioodi alguses oli ligikaudu 1 kg võrra väiksem, mis võis osaliselt olla tagasihoidlikuma juurdekasvu põhjustajaks. Samuti ei pruukinud lisaks sööditud vastsete kogus (25 g) olla piisav, et tagada suuremat ööpäevast

juurdekasvu. Tehnilistel põhjustel ei saanud antud katses hinnata kuivisööda söömust ja söödaväärindust.

**Tabel 2.** Söötmisskatse andmed ja esialgsed tulemused Kesik 1 perioodil.

Näitajad	Kõrge proteiinisaldusega kuivisööt (KP)		Vähendatud proteiinisaldusega kuivisööt (VP)	
	Kesik 1	Kesik 1V*	Kesik 1	Kesik 1V*
	n=242	n=64	n=248	n=64
Sööda proteiinisaldus, %	17,3	17,3	15,7	15,7
KM perioodi algul, kg	20,7	19,3	20,6	19,7
KM perioodi lõpus, kg	40,9	35,9	42,7	39,9
Perioodi pikkus, päeva	28	28	28	28
Ööpäevane massi-iive, g	721	591	790	721

\* Pörsastele söödeti lisaks elusaid kärbsevaklu 25 grammi pörsa kohta päevas

Vastupidiselt esimese perioodiga oli Kesik 2 perioodil (tabel 3) vastsetega söödud sigade keskmine massi-iive suurem kui ainult kuivisööta tarbinud katsegruppide sigadel. Teisel perioodil oli kõige väiksem juurdekasv VP grupi ja kõige suurem KP+V grupi sigadel. Ka sel perioodil võis tulemusi osaliselt mõjutada see, et vastsetega söödud sigade kehamass katse algul oli ligikaudu 3 kg suurem.

**Tabel 3.** Söötmisskatse andmed ja esialgsed tulemused Kesik 2 perioodil

Näitajad	Kõrge proteiinisaldusega kuivisööt (KP)		Vähendatud proteiinisaldusega kuivisööt (VP)	
	Kesik 2	Kesik 2V*	Kesik 2	Kesik 2V*
	n=242	n=32	n=248	n=32
Sööda proteiinisaldus, %	17	17	15	15
KM perioodi algul, kg	40,9	43,9	42,7	46,1
KM perioodi lõpus, kg	67,1	72	67,1	73
Perioodi pikkus, päeva	33	33	33	33
Ööpäevane massi-iive, g	793	852	738	818

\* Pörsastele söödeti lisaks elusaid kärbsevaklu 50 grammi pörsa kohta päevas

## Kokkuvõte

Esialgsete tähelepanekute põhjal võib järeldada, et sigadele meeldib süüa elusaid vastseid ja see vähendas ka saba hammustamist. Sigadele võib seega ogakärblase vastseid pidada nii söödavaks tegelusmaterjaliks kui ka kohalikul toodetud alternatiivseks proteiiniallikaks. Praegu on putukatest saadud söötade kasutamise peamiseks takistuseks nende kõrge hind, aga pidevad tehnoloogilised uuendused ja suurenevad tootmismahud võivad muuta putukate kasvatamise ning nendest saadud söötade tootmise ka majanduslikult otstarbekaks.

## Tänuõnad

Antud uuring toimus projekti “Seakasvatuse efektiivsuse suurendamine” raames, mille elluviimist toetab PRIA, MAK meede 16.2 Uute toodete, tavade, protsesside ja tehnoloogiate arendamise toetus.

## Märkus

Osaliselt on antud uuringu tulemusi tutvustatud ka konverentsil „XIX Baltic Animal Breeding Conference“ ja selle teesides.

## Kasutatud kirjandus

- ELT. 2021. Euroopa Liidu Teataja, L 295, 18. august 2021. Komisjoni määrus (EL) 2021/1372, 17. august 2021, millega muudetakse Euroopa Parlamendi ja nõukogu määruse (EÜ) nr 999/2001 IV lisa seoses keeluga sööta mittemäletsejalisi põllumajandusloomi, välja arvatud karusloomad, loomadelt saadud valkudega (EMPs kohaldatav tekst)
- EP. 2023. Euroopa Parlamendi ja nõukogu määrus (EÜ) nr 999/2001, 22. mai 2001, millega sätestatakse teatavate transmissiivsete spongioossete entsefalopaatiate vältimise, kontrolli ja likvideerimise eeskirjad.
- Gasco, L., Biasato, I., Dabbou, S., Schiavone, A., Gai, F. 2019. Animals Fed Insect-Based Diets: State-of-the-Art on Digestibility, Performance and Product Quality. *Animals* (Basel). 16;9(4):170. doi: 10.3390/ani9040170. PMID: 30995783; PMCID: PMC6523619.
- PTA. 2021. Putukate juhend. Põllumajandus- ja Toiduamet.
- Veldkamp, T., Bosch, G. 2015. Insects - a protein rich feed ingredient in pig and poultry diets. *Anim Front.* 2015; 5:45–50.

### ***The effect of feeding black soldier fly larvae on weight gain in growing pigs.***

*Since September 2021, insects are allowed to use in EU for pig and poultry feed. Insects may soon become a reliable complement to fishmeal and soy that are widely used in feed for pigs and poultry. The effect of feeding black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae on daily weight gain in growing pigs was evaluated in a commercial pig farm. Growing pigs were fed with either high protein (HP, 17% CP, n=242), reduced protein (RP, 15% CP, n=248), high protein supplemented with black soldier fly larvae (HP+L, n=64) or reduced protein supplemented with larvae (RP+L, n=64) diets. Larvae dry matter contained 35% protein and 47% fat. RP feed contained about 20% less soybean meal and 15-20% more rapeseed cake than the HP feed. All diets were supplemented with minerals, vitamins and amino acids. Animals in HP+L and RP+L groups were fed additionally 25 grams live larvae per pig per day in the first period (28 days) and 50 grams in the second period (33 days) of trial. In the first period of the trial, the daily weight gain of the pigs fed larvae was lower, but in the second period, it was higher compared to the control (HP and LP) groups. Based on initial observations, it can be concluded that pigs like to eat live larvae, and it also reduced tail biting behaviour. Therefore, the black soldier fly larvae can be considered as edible enrichment material and locally grown alternative protein source for growing pigs. Parts of this study were previously presented at XIX Baltic Animal Breeding Conference. The project was financed by the Estonian Agricultural Registers and Information Board through MAK 2014-2020 measure 16.2. Support for the development of new products, practices, processes and technologies.*

**Keywords:** *insect-derived protein feed, pigs, black soldier fly*

Corresponding author: [varpo.vare@student.emu.ee](mailto:varpo.vare@student.emu.ee) (Varpo Vare)

### **Söödalisandite mõju piimalehma söömusele, ainevahetusele ja toodangule üleminekuperioodil**

**Priit Karis\*, Anne Alliku, Anette Matto, Katri Ling**

*EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, söötmisteaduse õppetool*

\*[priit.karis@emu.ee](mailto:priit.karis@emu.ee)

#### **Sissejuhatus**

Üleminekuperiood, mida kõige sagedamini defineeritakse kui perioodi kolm nädalat enne kuni kolm nädalat peale poegimist, on koormav lehma organismile. Piimasünteesi algus ja sellest tulenev kiire toitefaktorite tarbe kasv, poegimine, sünniteede kahjustused, patogeenide pääs udarasse ja sünniteedesse, sööda muutus, uude sulgu viimine – kõikide nende tegurite koosmõju väljendub sageli (sub-)kliinilise haigusena. Eestis toimuvad pooled lehmade praakimised karjast enne 100ndat lüpsipäeva ja praakimise risk on kõige suurem laktatsiooni alguses (Rilanto jt, 2020). Santos jt (2011) hindasid 5719 lehmale haiguste esinemust kahel esimesel laktatsioonikuul ja leidsid, et 44% neist esines vähemalt üks kliiniline haigus.

Kuivõrd üleminekuperioodil esinevad probleemid tulenevad paljude tegurite koosmõjust, siis on ka palju farmis rakendatavaid tegevusi nende ennetamiseks või leevendamiseks. Üheks selliseks on spetsiifilise toimega söödalisandite söötmine, kusjuures pakutavate toodete hulk on Eesti turul küllaltki suur. Nende hulgas on ka uuenduslikke söödalisandeid, mille teaduslik tõestus on vähene. Seetõttu on loomapidajal sobiva väljavahimine keeruline.

Esimesed teadusartiklid *Saccharomyces cerevisiae* pärmiliigi eluskultuuri kui põllumajandusloomadele söödetaava söödalisandi mõjust on ligi 100 aasta vanused (Eckles jt, 1924). Samuti on kirjeldatud selle mõju Eesti piimalehmade toodangule ja ainevahetusele (Rihma jt, 2007; Kalmus jt, 2009). Lisaks eluspärmile kasutatakse söödalisandina ka pärmiraku kesti, seda toodet nimetatakse enamasti autolüüsitud pärmiks. Pärmiraku kest koosneb 90% ulatuses polüsahhariididest, milledest põhilised on  $\beta$ -glükaan ja mannaan (Schlabitz jt, 2022). Need polüsahhariidid toimivad vatsas prebiootikumidena, vähendades Gram-negatiivsete ja suurendades Gram-positiivsete bakterite arvukust vatsas (Neubauer jt, 2018). Aung jt (2019; 2020) leidsid, et pärmi rakukestad toetavad immuunsüsteemi ja seeläbi suurendavad lehma võimekust



võidelda patogeenidega. Eestis ei ole autolüüsitud pärmi uuritud.

Lüpsva lehma glükoositarve on suur, ainuüksi udaral on 45 kg piima tootmiseks vaja 3,2 kg glükoosi. Glükoosi vajavad ka immuunrakud, et võidelda haigustekitajate vastu. Kvidera jt (2017) hindasid aktiveeritud immuunsüsteemi glükoosi tarbeks 2 kg päevas. Mäletsejaliste seedesüsteemi iseärasuste tõttu on peensooles imenduva glükoosi osakaal väike, mistõttu maksas toimuv glükoneogenees varustab lehma ülejäänud organismi glükoosiga. Suurendamiseks söödast pärinevat ja imenduvat glükoosi, on teadaolevat välja töötatud nn kaitstud glükoos, milles lagunemine vatsas on piiratud. Esialgsed tulemused viitavad, et glükoosi kaitsmine võib suurendada piimatoodangut, vähendades samal ajal kehavarude kasutamist laktatsiooni alguses (McCarthy jt, 2020; Zhang jt, 2021).

Loomakasvatusektor peab vähendama antibiootikumide kasutamist, Euroopa Liidu „Talustaldrikule“ strateegia üheks eesmärgiks on vähendada aastaks 2030 antibiootikumide müüki 50% võrra. Üheks võimaluseks on kasutada looduslikke bioaktiivseid ühendeid, nn fütogeene, mille positiivne mõju peaks väljenduma läbi prebiootilise või immuunsust toetava efekti (Neubauer jt, 2018).

Uurimustöö hüpoteesiks oli, et söödalisandite söötmine üleminekuperioodil toetab lehma poegimisjärgse ainevahetuse kohanemist kõrge piimatoodanguga. Selle kontrollimiseks seati eesmärgiks hinnata kolme söödalisandi mõju eesti holsteini lehmade söömusele, ainevahetusele ja toodangule üleminekuperioodil.

### Uurimistöö metoodika

Söötmisskatse viidi läbi Eesti Maaülikooli Märja katsefarmis (Eerika Farm OÜ) kus 130 lüpsilehma peetakse vabapidamislaudas ja keskmine piimatoodang lehma kohta on u 9700 kg. Katses osalesid kõik ajavahemikul 2022. aasta märtsist kuni detsembrini poeginud eesti holsteini tõugu korduvpoeginud lehmad (n=34). Neist kolm arvati katsest välja, kuna nad praagiti enne katseperioodi lõppu. Katselehmad toodi vabapidamisega laudast ja lõastati katseruumis nädal enne eeldatavat poegimist ja viidi tagasi kolm nädalat pärast poegimist.

Lehmad jaotati ajalises järjestuses söödalisandite alusel nelja katserühma:

- 1) rühm 1 – kontroll (n=8),
- 2) rühm 2 – autolüüsitud pärm (päevas 10,25 g, Levabon, DSM, Holland) (n=8),
- 3) rühm 3 – kaitstud glükoos (päevas 200 g, GluNergy, Proficio/Centurion, Austria) (n=8),
- 4) rühm 4 – fütogeeneid (päevas 3 g, Digestarom, DSM, Holland), autolüüsitud pärm (10,25 g/p) ja kaitstud glükoos (200 g/p) (n=7).

Lehmade keskmine laktatsioonide arv ja suhteline piima aretusväärtus olid katserühmades vastavalt 2,5; 2,38; 2,38; 2,43 ja 104; 104; 108; 102. Loomade toitumust hinnati iga kolme päeva tagant Ferguson jt (1994) metoodika alusel. Lehmad kaaluti katseperioodi alguses ja lõpus. Lehmi söödeti individuaalselt kaks korda päevas, kell 6:00 ning 15:00, nende söömused registreeriti igal söötmiskorral. Lehmadele söödeti koresööta ja jõusööta eraldi. Koresööt koosnes silost ja heinast vahekorras u 70:30, jõusööt koosnes kinnisperioodil rapsikoogist ning odrajahust, lüpsiperioodil lisandus mais. Rapsikoogi kogust kinnisperioodil ja jõusööda koostist lüpsiperioodil korrigeeriti vastavalt koresööda toitefaktorite sisaldusele, et tagada metaboliseeruva energia (ME) ja metaboliseeruva proteiini kontsentratsioonid kuivaines vastavalt 9,1 MJ/kg ja 77 g/kg kinnisperioodil ning 11 MJ/kg ja 95 g/kg lüpsiperioodil. Esmalt kaaluti söödakünas olev koresööda jääk, seejärel kaaluti mineraalsööda ja söödalisandite kogused, mis segati jõusöödaga ja anti loomadele ette. Pärast ühe tunni möödumist kaaluti järele jäänud jõusöödasegu ning kaaluti uus etteantav koresööda kogus. Kui koresööda jääk oli alla 1 kg, siis suurendati etteantavat kogust 1 kg võrra. Peale poegimist anti jõusööta vastavalt lüpsipäevade arvule. Esimesel laktatsioonipäeval söödeti hommikul ja õhtul 2 kg jõusöödasegu ehk kokku 4 kg, igal järgneval lüpsipäeval suurenes see 0,5 kg võrra. Jõusööda kogus jäi samaks alates 16. lüpsipäevast, mil lehmad said päevas 11,5 kg jõusööta – hommikul 6 kg ja õhtul 5,5 kg.

Koresöödast võeti proovipäevadel proov kuivainesisalduse määramiseks. Kui organoleptiliselt hinnatud koresööda kuivainesisaldus erines viimasest proovist, siis võeti lisaproov. Katses kasutatud söödapartiid analüüsiti EMÜ VLI söötmisteaduse õppetooli söödalaboris, kasutades Euroopa Liidus üldtunnustatud analüüsimeetodikke.

Loomade lüpsimine toimus kaks korda päevas: kell 4:00 ning 14:00. Individuaalseid piimaproove (50 ml) hakati koguma alates neljandast laktatsioonipäevast – iga proovipäeva hommikuse ning õhtuse lüpsi ajal. Lisaks registreeriti hommikune ja õhtune piimatoodang. Proove stabiliseeriti bronopoli abil ja hoiti temperatuuril +4 °C, kuni analüüsimiseni. Piimaproovidest määrati rasva-, valgu- ja laktoosisisaldus Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS laboris. Energia järgi korrigeeritud piima (EKM) kogus leiti vastavalt Sjaunja jt (1990) poolt pakutud valemile.

Katseloomadelt võeti proovipäevadel hommikuse söötmise ajal vereproovid sabaveenist Li-hepariiniga vaakumkatsutitesse. Vereproovid hoiustati +4 °C juures (maksimaalselt 24 h) kuni plasma eraldamiseni (20 min x 4000G). Plasma hoiustati -80 °C juures kuni analüüsimiseni. Vereplasmast määrati esterifitseerimata rasvhapete (NEFA) ja β-hüdroksübutüraadi (BHB) sisaldus.

Hindamaks söötmissüsteemi mõju uuritavatele tunnustele koostati üldine lineaarne mudel. Mudeli fikseeritud muutujateks seati aeg, rühm, aja ja rühma koosmõju; segavaks faktoriks SPAV ning juhuslikuks faktoriks lehm. Söömuse hindamiseks seati täiendavaks segavaks faktoriks lehma mass. Mudel koostati funktsiooniga „lmer”, mudeli ennustatud keskvaartused leiti funktsiooniga „emmeans”, dispersioonanalüüs teostati funktsiooniga „Anova” ja kontrastid leiti funktsiooniga „contrasts”. Andmetöötluseks kasutati programmi „R” (R Core Team). Statistilise erinevuse piiriks seati p-väärtus <0,05 ja trendi piiriks <0,1.

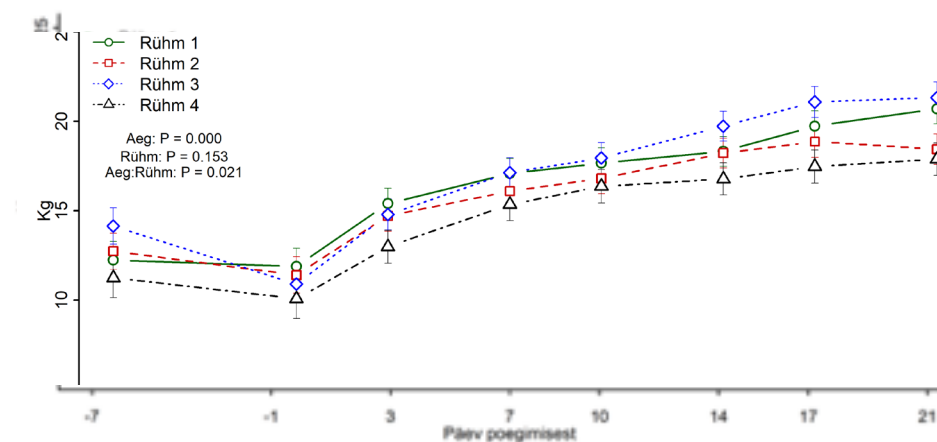
## Tulemused ja arutelu

Erinevate katserühmade lehmade keskmine toitumushinne oli nii katse alguses kui ka lõpus sarnane, katse alguses vahemikus 2,89–3,18 ja katse lõpus vahemikus 2,54–2,78 (tabel 1). Kolmes katserühmas oli ka lehmade mass sarnane, ainukesena eristub rühm 3, milles olnud loomade mass oli u 75 kg teistest suurem.

**Tabel 1.** Katseloomade toitumus ja mass katseperioodi alguses (-7 lüpsipäev (LP)) ja lõpus (21 LP).

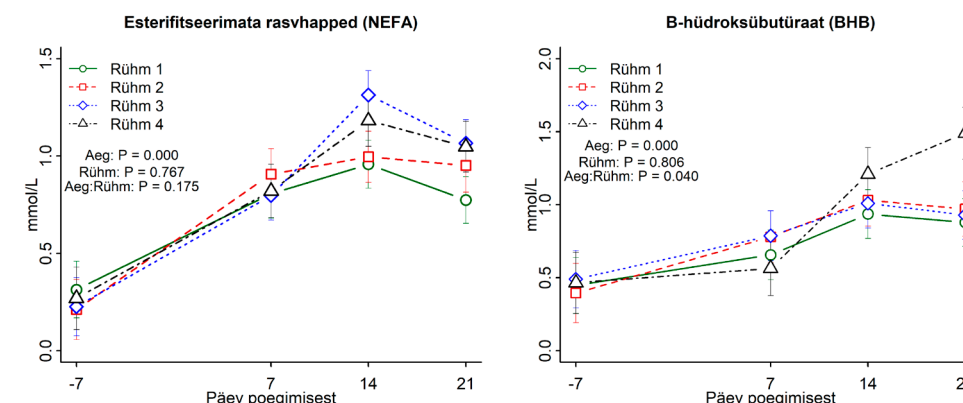
Rühm	Toitumushinne, -7 LP	Toitumushinne, 21 LP	Mass -7 LP, kg	Mass 21 LP, kg
1	3,03	2,67	755	662
2	3,00	2,64	763	651
3	3,18	2,78	822	709
4	2,89	2,54	727	603

Lehmade kuivaine söömuse oli nädal enne poegimist keskmiselt 12,6 kg, seejuures kõrgeim oli see rühmas 3 (14,1 kg) ja madalaim rühmas 1 (11,2 kg), kuigi statistiliselt olulised erinevused rühmade vahel puudusid (joonis 1). Päev enne poegimist sõid lehmad keskmiselt 11 kg sööda kuivainet. Sealt edasi tõusis söömuse kõrgus rühmas kuni katseperioodi lõpuni ( $p < 0,01$ ), v.a rühmas 2 lüpsipäevast 17 kuni lüpsipäevani 21. Kuigi rühma 4 loomade söömuse oli läbivalt kõige väiksem, siis erines see oluliselt vaid rühmast 3



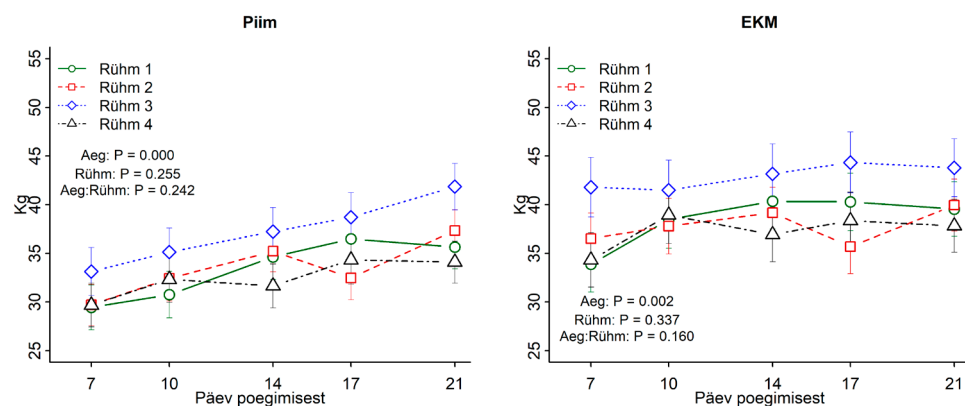
**Joonis 1.** Söödalisanõite mõju kuivaine söömusele eesti holsteini lehmadel.

lüpsipäevadel 17 ja 21 ( $p < 0,05$ ). Nendel päevadel sõid rühma 4 loomad 3,5 kg vähem. Ratsiooni metaboliseeruva energia (ME) sisaldus oli u 11 MJ/kg, st rühma 4 loomad said päevas söödaga 38,5 MJ ME vähem kui rühma 3 loomad. Eeldades 5,25 MJ ME vajadust 1 kg piima tootmiseks, vastab see 7,3 kg piima tootmiseks vajaminevale energiale. Teiste rühmade vahel erinevused puudusid. Rühma 4 väiksemat söömuse võib seletada füto- ja spetsiifilise lõhna tugevusega, mis ei kutsu lehma sööma. Sarnasele tulemusele on jõudnud ka teised autorid (Tager ja Krause, 2011; Tassoul ja Shaver, 2009).



**Joonis 2.** Söödalisanõite mõju vere NEFA ja BHB kontsentratsioonile eesti holsteini lehmadel.

Vere metaboliidid esterifitseerimata rasvhapped (NEFA) ja  $\beta$ -hüdroksübutüraat (BHB) kirjeldavad mõlemad söödaga saadava energia puudujääki. Esimene neist iseloomustab rasvkoos vabastatud ja verre viidud rasvhapete hulka ehk lipolüüsi intensiivsust ja teine maksa võimekust NEFA-dega toime tulla, aga ka glükoosi puudust organismis. Nädal enne ja pärast poegimist olid NEFA ja BHB keskmised kontsentratsioonid katseloomadel sarnased. Kahel viimasel katsenädalal aga tõusis rühmas 3 ja 4 NEFA kontsentratsioon kõrgemaks kui rühmades 1 ja 2. Samas rühma 3 loomadele ei toonud see kaasa BHB tõusu, seevastu rühma 4 loomade keskmine BHB väärtus ületas subkliinilise ketoosi piirväärtuse (BHB üle 1,2 mmol/l).



**Joonis 3.** Söödalisandite mõju piimatoodangule ja energia järgi korrigeeritud piima (EKM) toodangule eesti holsteini lehmadel.

Piima kuivaine sisaldus, eriti rasva sisaldus, on iga lehma väljalüpsitud piimas erinev. Selleks, et piimatoodangud oleksid omavahel võrreldavad arvutatakse energia järgi korrigeeritud piima (EKM) kogus, mis iseloomustab sellist piima, mille kilogrammis on 3,14 MJ energiat. Terve katseperioodi jooksul oli nii piima kui ka EKM toodang suurem rühma 3 lehmadel (joonis 3), kuigi statistiliselt usutava erinevuse trend esines vaid 21. lüpsipäeval rühmade 3 ja 4 vahel (41,9 vs 34,1 kg;  $p=0,07$ ). EKM toodangu erinevus samal ajahetkel oli 6,0 kg, mis läheb hästi kokku söömuse andmetega ja vere metaboliitide sisaldusega. Rühma 4 lehmad söid u 7,3 kg EKM ekvivalendi võrra vähem, st et nad pidid rohkem kasutama kehavarusid piima tootmiseks ja seetõttu oli nende veres kõrgem NEFA ja BHB kontsentratsioon.

### Kokkuvõte ja järeldused

Katsesse võetud loomade vähesuse tõttu ei ole katserühmade vahel selgeid

statistilisi erinevusi. Sellele vaatamata viitavad kõik tulemused sellele, et kaitstud glükoos omab söödetud söödalisanditest kõige suuremat potentsiaali. Kaitstud glükoosi mõju tuleb edasi uurida ja seda suurema loomade arvuga tootmisfarmi tingimustes.

### Tänuõnad

Käesolev uuring on läbi viidud koostöös Eesti Maaülikooli ja Anu Ait OÜ-ga projekti “Uudse, tervist toetava täiendsööda välja töötamine uuslüpsiperioodiks maksimaalselt ära kasutades lehmade aretusega saavutatud toodangu võimekust” raames, mida rahastab Põllumajanduse Registrite ja Informatsiooni Amet (PRIA) läbi Maaelu arengukava (MAK) meetme 16.2. Täname Märja katsefarmi ja söötmissõpetuse õppetooli labori personali igakülgse abi eest.

### Kasutatud kirjandus

- Aung, M., Ohtsuka, H. ja Izumi, K. 2019. Effect of yeast cell wall supplementation on production performances and blood biochemical indices of dairy cows in different lactation periods. *Veterinary World*, 12(6), 796.
- Aung, M., Ohtsuka, H. Ja Izumi, K. 2020. Effect of yeast cell wall supplementation on peripheral leukocyte populations and mRNA expression of cytokines in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 103(6), 5634-5640.
- Eckles, C. H., Williams, V. M., Wilbur, J. W., Palmer, L. S. ja Harshaw, H. M. 1924. Yeast as a supplementary feed for calves. *Journal of Dairy Science*, 7(5), 421-439.
- Ferguson, J. D., Galligan, D. T. ja Thomsen, N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of dairy science*, 77(9), 2695-2703.
- Kalmus, P., Orro, T., Waldmann, A., Lindjärv, R. ja Kask, K. 2009. Effect of yeast culture on milk production and metabolic and reproductive performance of early lactation dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1), 1-7.
- Kvidera, S. K., Horst, E. A., Abuajamieh, M., Mayorga, E. J., Fernandez, M. S. ja Baumgard, L. H. (2017). Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 2360-2374.
- McCarthy, C. S., Dooley, B. C., Branstad, E. H., Kramer, A. J., Horst, E. A., Mayorga, E. J. ja Baumgard, L. H. (2020). Energetic metabolism, milk production, and inflammatory response of transition dairy cows fed rumen-protected glucose. *Journal of Dairy Science*, 103(8), 7451-7461.
- Neubauer, V., Petri, R., Humer, E., Kröger, I., Mann, E., Reisinger, N., Wagner, M. ja Zebeli, Q. 2018. High-grain diets supplemented with phytogetic compounds or autolyzed yeast modulate ruminal bacterial community and fermentation in dry cows. *Journal of dairy Science*, 101(3), 2335-2349.

- Rihma, E., Kärt, O., Mihhejev, K., Henno, M., Jõudu, I. ja Kaart, T. 2007. Effect of dietary live yeast on milk yield, composition and coagulation properties in early lactation of Estonian holstein cows. *Agraarteadus*, 18, 37-41.
- Rilanto, T., K. Reimus, T. Orro, U. Emanuelson, A. Viltrop ja K. Mõtus. 2020. Culling reasons and risk factors in Estonian dairy cows. *BMC Veterinary Research* 16:173.
- Santos, J.E.P., R.S. Bisinotto, E.S. Ribeiro, F.S. Lima, L.F. Greco, C.R. Staples ja W.W. Thatcher. 2010. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. *Society of Reproduction and Fertility* 67:387-403.
- Schlabitz, C., Lehn, D. N. ja de Souza, C. F. V. 2022. A review of *Saccharomyces cerevisiae* and the applications of its byproducts in dairy cattle feed: Trends in the use of residual brewer's yeast. *Journal of Cleaner Production*, 332, 130059.
- Sjaunja, L. O., Baevre L., Junkkarinen L., Pedersen J. ja Setälä J. 1990. A Nordic proposal for an energy-corrected milk (ECM) formula. *27th Session International Committee for Recording and Productivity of Milk Animals; 2-6 July 1990, Paris, France.*
- Tager, L. R. ja Krause, K. M. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 94(5), 2455-2464.
- Tassoul, M. D. ja Shaver, R. D. 2009. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. *Journal of Dairy science*, 92(4), 1734-1740.
- Zhang, X., Li, X., Wu, J., Jiao, J., He, Z., Tan, Z., & Han, X. (2021). Rumen-protected glucose supplementation in transition dairy cows shifts fermentation patterns and enhances mucosal immunity. *Animal Nutrition*, 7(4), 1182-1188.

### ***The effect of selected feed additives on the dry matter intake, metabolism, and production of a transition dairy cow***

*The physiological and environmental changes a dairy cow faces during the transition period too often lead to (sub-)clinical disease. One method used to alleviate the problems is the use of feed additives. There is a large selection of them on the market, but not all their effects have been sufficiently studied. The aim of this study was to evaluate the effects of three different feed additives) on the dry matter intake, metabolism, and production of a transition dairy cow. In total 34 multiparous Estonian Holstein cows, of which three were excluded, were enrolled from March to December in 2022. Cows were divided into four groups based on feed additives fed from -7 to 21 days in milk: group 1 - control, group 2 - autolyzed yeast, group 3 - protected glucose, group 4 - autolyzed yeast, protected glucose and phytogenics. Feed intake was the lowest throughout the trial in group 4, the reason could be the strong and specific smell of phytogenics. Milk and ECM yield were the highest in group 3 throughout the trial, although the difference was statistically significant only on the 21st milking day between group 3 and 4. During the last two weeks of the trial NEFA concentration was higher in group 3 and 4 than in group 1 and 2. Although it did not lead to an increase in BHB for cows in group 3, but group 4 cows average BHB was above the subclinical ketosis threshold. Due to the small number of cows included in the trial, there are no clear statistical differences between the groups. However, all the results suggest that protected glucose has the greatest potential out of the three feed additives. Nevertheless, further research is needed to investigate the effect of protected glucose with a larger number of cows on a commercial farm.*

**Keywords:** *transition period, *Saccharomyces cerevisiae*, phytogenics, protected glucose, NEFA, BHB*

Corresponding author: [priit.karis@emu.ee](mailto:priit.karis@emu.ee) (Priit Karis)



## TERVE LOOM

Esitatud virtuaalsete stendiettekannetena

### Sigade Aafrika katku viiruse geneetiline varieeruvus Eestis

Annika Vilem<sup>1,2\*</sup>, Imbi Nurmoja<sup>2</sup>, Lea Tummeleht<sup>1</sup> ja Arvo Viltrop<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetool

<sup>2</sup> Riigi Laboriuuringute ja Riskihindamise Keskus, LABRIS

\*[annika.vilem@student.emu.ee](mailto:annika.vilem@student.emu.ee)

#### Sissejuhatus

Sigade Aafrika katk (SAK) on üheks suurimaks ohuks maailma seakasvatusele, kuna põhjustab tulenevalt rahvusvahelisest elussigade ja lihatoodete transpordi keelust suurt majanduslikku kahju. Hetkel puudub probleemi leevendamiseks nii ravi kui ka tõhus vaktsiin sigade Aafrika katku vastu [1–4]. Ainsad kontrollmeetmed viiruse vastu võitlemiseks on efektiivsed seireprogrammid, rangete bioohutuse, bioturvalisuse ja hügieenimeetmete rakendamine [1,5–7]. SAK-i põhjustab sigade Aafrika katku viirus (SAKV), millel on kaheaahelaline DNA ja mis kuulub *Asfaviridae* sugukonda [8,9]. Alates 2007. aastast, mil SAKV tuvastati Gruusias, on viirus kiiresti levinud lääne- ja põhjasuunal, nakatades nii kodu- kui ka metssigu Ida- ja Kesk-Euroopas. Praeguseks on viirust tuvastatud 14 Euroopa Liidu riigis [10,11]. Alates 2018. aastast on viirus levinud ka teistel kontinentidel nagu Aasia, Okeania ja Ameerika [11,12]. Vaktsiini ja ravi puudumine, viiruse globaalne levik ja kandumine pikkade vahemaade taha nii riigisisest kui ka kontinentide vahel teevad SAK-i kontrollimise ja tõrje ülemaailmse seakasvatustööstuse jaoks väga keeruliseks. Seetõttu on vajalikud ja kasulikud kõik uuringud, mis aitavad mõista haiguse epidemioloogiat ja viiruse evolutsiooni, aidates nii kaasa efektiivsemate kontrollmeetmete leidmisele.

Eestis tuvastati SAK metssigadel esmakordselt 2014. aastal [13–16]. Aastatel 2015–2017 kinnitati Eestis kodusigade seas 27 puhangut [13,17]. 2018. aastast hakkas SAKV juhtumite arv metssigade seas oluliselt langema ning vaatamata kestvale seirele ei tuvastatud alates 2019. aasta veebruarist kuni 2020. aasta augustini ühtegi PCR (polümeraasi ahelreaktsioon) testimise järgselt positiivset mets- ega kodusiga. 2020. aasta augusti lõpust tuvastati taas SAKV-ga nakatunud metssigu kolmes erinevas geograafilises piirkonnas [18]. Samuti tuvastati SAKV 2021. aasta suvel pärast mitme aasta pikkust pausi kodusigade

farmis. Metssigadel on viirust tuvastatud alates 2020. aasta sügisest kuni 2022. aasta lõpuni kokku seitsmes Eesti maakonnas. Kas tegemist on SAKV uue riiki sisenemisega või eelmise, perioodil 2014–2019 esinenud epideemiaga seotud viirusega, vajab selgitamist viiruse isolaatide molekulaarse tüpeerimise teel.

### Uurimistöö metoodika

Et välja selgitada, kas uued leiud aastatel 2020–2022 on seotud varasema epideemiaga või on tegemist viiruse uue riiki sisenemisega, valiti viis erinevat molekulaarset markerit, et tüvesid kirjeldada. Kokku oli valimis 146 SAKV positiivset tüve, mis pärinesid kogu puhanguperioodist, hõlmates 2015–2022 aastal tuvastatud SAKV isolaate. Valitud geenipiirkonnad amplifitseeriti PCR meetodil. PCR positiivse signaali andnud tüved sekveneeriti Sanger sekveneerimismeetodil Applied Biosystems® 3130xl Genetic analüsaatoriga. Sekventsanalüüs teostati kasutades MEGA7.0.26 tarkvara ja ClustalW joondust [20]. Saadud järjestusi võrreldi Gruusia 2007/1 referentsjärjestusega (GenBank number FR682468.2) [21].

### Tulemused ja arutelu

Sarnaselt teistes Euroopa Liidu liikmesriikides levivate SAKV isolaatidega, kuuluvad Eestis levivad SAKV tüved *p72* valgu järjestuse põhjal genotüüpi 2 (GII), olles *B646L* geeni sekveneerimise järgi 100% identsed Gruusia 2007. aasta referentsjärjestusega [21]. Eelnevas uuringus on mitmed genotüübisisesed, kuid geneetiliselt erinevad variandid tuvastatud teiste genoomi piirkondade kirjeldamise teel. Näiteks tuvastati Eestis *B602L* geeni keskse varieeruva piirkonna (*central variable region*, CVR) sekveneerimisel uus geneetiline SAKV genotüüp II CVR variant II (GII-CVR2), millel esines valgulisel järjestuses kolme tandemkorduse deletsioon. Lisaks tuvastati ühe nukleotiidne polümorfism (*single nucleotide polymorphism*, SNP) SAKV genotüüp II CVR variant I (GII-CVR1/SNP1) tüves [13]. Mõlemad *B602L* geenid kirjeldatud variandid on siiani tuvastatud ainult Eestis. Lisaks toetas GII-CVR1/SNP1 variandi tuvastamine varasemas uuringus leitud seost, et viiruse jõudmine kodusigade farmi on seotud viiruse levikuga metssigade seas [17]. Kirde-Eestis kirjeldati samuti ainult Eestile iseloomulikku SAKV viiruse varianti, mida seostati oluliselt nõrgenenud fenotüübiga [22].

Käesolevas uuringus Eestis levivate SAKV tüvede sekveneerimisel selgus, et enamus valitud markerite kirjeldamine ei eristanud 2020–2022 tuvastatud tüvesid epideemia algusaastatel levinud SAK viirusest. Geenipiirkondade võrdlemisel olid uuritud tüvede järjestused 100% identsed Gruusia 2007/1 referentstüvega või enimlevinud tüvedega Euroopa Liidus [9,13,19]. Geenide molekulaarne analüüs on samas paigutanud mitmed teiste riikide SAKV tüved erinevatesse

klastrisse ja osutunud edukaks molekulaarepidemioloogilises uuringus [19].

*B602L* geeni sekveneerimine näitas, et perioodil 2020–2022 ei ringle enam varem Vilem jt, 2020 uuringus tuvastatud SAKV GII-CVR2 ja GII-CVR1/SNP1 variante, mis kinnitab nende väljasuremist ja võimalikku seost viiruse vähenenud virulentsusega nendel tüvedel. Käesolevas uuringus tuvastati samas geenis uus mutatsioon, mille alusel on võimalik paigutada Eestis 2020–2022 tuvastatud tüved kahte epidemioloogilisse klastrisse.

### Kokkuvõte ja järeldused

Käesolev uuring näitas, et mitte sugugi kõik praegu kasutusel olevad molekulaarsed markerid ei pruugi geograafiliselt erinevates piirkondades kasulikud olla. Mujal Euroopas edukaks osutunud markerid ei võimaldanud Eestis levinud viirustüvesid üksteisest eristada. Seetõttu on oluline erinevatel SAKV-ga tabanud riikidel ka ise otsida sobilikke gene oma tüvede kirjeldamiseks. Uuringus selgus, et Eesti tüvede eristamisel on jätkuvalt kasulik juba varasemalt kasutatud geenipiirkond *B602L*.

### Tänuõnad

Autorid tänavad kootööpartnereid ja labori personali nii Riigi Laboriuuringute ja Riskihindamise Keskusest kui ka EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudist igakülgse abi eest.

### Kasutatud kirjandus

- Rathakrishnan, A.; Connell, S.; Petrovan, V.; Moffat, K.; Goatley, L.C.; Jabbar, T.; Sánchez-Cordón, P.J.; Reis, A.L.; Dixon, L.K. Differential Effect of Deleting Members of African Swine Fever Virus Multigene Families 360 and 505 from the Genotype II Georgia 2007/1 Isolate on Virus Replication, Virulence and Induction of Protection. *J Virol* **2022**, jvi.01899-21, doi:10.1128/jvi.01899-21.
- Arias, M.; de la Torre, A.; Dixon, L.; Gallardo, C.; Jori, F.; Laddomada, A.; Martins, C.; Parkhouse, R.M.; Revilla, Y.; Rodriguez, F. and J.-M.; et al. Approaches and Perspectives for Development of African Swine Fever Virus Vaccines. *Vaccines* **2017**, *5*, 35, doi:10.3390/vaccines5040035.
- Barasona, J.A.; Gallardo, C.; Cadenas-Fernández, E.; Jurado, C.; Rivera, B.; Rodríguez-Bertos, A.; Arias, M.; Sánchez-Vizcaíno, J.M. First Oral Vaccination of Eurasian Wild Boar Against African Swine Fever Virus Genotype II. *Front. Vet. Sci.* **2019**, *6*, 137, doi:10.3389/fvets.2019.00137.
- Malogolovkin, A.; Yelsukova, A.; Gallardo, C.; Tsybanov, S.; Kolbasov, D. Molecular Characterization of African Swine Fever Virus Isolates Originating from Outbreaks in the Russian Federation between 2007 and 2011. *Veterinary Microbiology* **2012**, *158*, 415–419, doi:10.1016/j.vetmic.2012.03.002.

5. Arias, M.; Jurado, C.; Gallardo, C.; Fernández-Pinero, J.; Sánchez-Vizcaíno, J.M. Gaps in African Swine Fever: Analysis and Priorities. *Transbound Emerg Dis* **2018**, *65*, 235–247, doi:10.1111/tbed.12695.
6. Woźniakowski, G.; Kozak, E.; Kowalczyk, A.; Lyjak, M.; Pomorska-Mól, M.; Niemczuk, K.; Pejsak, Z. Current Status of African Swine Fever Virus in a Population of Wild Boar in Eastern Poland (2014–2015). *Arch Virol* **2016**, *161*, 189–195, doi:10.1007/s00705-015-2650-5.
7. Gallardo, C.; Fernández-Pinero, J.; Arias, M. African Swine Fever (ASF) Diagnosis, an Essential Tool in the Epidemiological Investigation. *Virus Research* **2019**, *271*, 197676, doi:10.1016/j.virusres.2019.197676.
8. Alonso, C.; Borca, M.; Dixon, L.; Revilla, Y.; Rodriguez, F.; Escribano, J.M.; ICTV Report Consortium ICTV Virus Taxonomy Profile: Asfarviridae. *Journal of General Virology* **2018**, *99*, 613–614, doi:10.1099/jgv.0.001049.
9. Gallardo, C.; Fernández-Pinero, J.; Pelayo, V.; Gazaev, I.; Markowska-Daniel, I.; Pridotkas, G.; Nieto, R.; Fernández-Pacheco, P.; Bokhan, S.; Nevolko, O.; et al. Genetic Variation among African Swine Fever Genotype II Viruses, Eastern and Central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* **2014**, *20*, 1544–1547, doi:10.3201/eid2009.140554.
10. Mulumba-Mfumum, L.K.; Saegerman, C.; Dixon, L.K.; Madimba, K.C.; Kazadi, E.; Mukalakata, N.T.; Oura, C.A.L.; Chenais, E.; Masembe, C.; Ståhl, K.; et al. African Swine Fever: Update on Eastern, Central and Southern Africa. *Transbound Emerg Dis* **2019**, tbed.13187, doi:10.1111/tbed.13187.
11. Mur, L. African Swine Fever (Asf) – Situation Report 4. *AFRICAN SWINE FEVER* **6**.
12. Ge, S.; Li, J.; Fan, X.; Liu, F.; Li, L.; Wang, Q.; Ren, W.; Bao, J.; Liu, C.; Wang, H.; et al. Molecular Characterization of African Swine Fever Virus, China, 2018. *Emerg. Infect. Dis.* **2018**, *24*, 2131–2133, doi:10.3201/eid2411.181274.
13. Vilem, A.; Nurmoja, I.; Niine, T.; Riit, T.; Nieto, R.; Viltrop, A.; Gallardo, C. Molecular Characterization of African Swine Fever Virus Isolates in Estonia in 2014–2019. *Pathogens* **2020**, *9*, 582, doi:10.3390/pathogens9070582.
14. Nurmoja, I.; Schulz, K.; Staubach, C.; Sauter-Louis, C.; Depner, K.; Conraths, F.J.; Viltrop, A. Development of African Swine Fever Epidemic among Wild Boar in Estonia - Two Different Areas in the Epidemiological Focus. *Sci Rep* **2017**, *7*, 12562, doi:10.1038/s41598-017-12952-w.
15. Nurmoja, I.; Petrov, A.; Breidenstein, C.; Zani, L.; Forth, J.H.; Beer, M.; Kristian, M.; Viltrop, A.; Blome, S. Biological Characterization of African Swine Fever Virus Genotype II Strains from North-Eastern Estonia in European Wild Boar. *Transbound Emerg Dis* **2017**, *64*, 2034–2041, doi:10.1111/tbed.12614.
16. Schulz, K.; Oļševskis, E.; Viltrop, A.; Masiulis, M.; Staubach, C.; Nurmoja, I.; Lamberg, K.; Seržants, M.; Malakauskas, A.; Conraths, F.J.; et al. Eight Years of African Swine Fever in the Baltic States: Epidemiological Reflections. *Pathogens* **2022**, *11*, 711, doi:10.3390/pathogens11060711.
17. Nurmoja, I.; Mõtus, K.; Kristian, M.; Niine, T.; Schulz, K.; Depner, K.; Viltrop, A. Epidemiological Analysis of the 2015–2017 African Swine Fever Outbreaks in Estonia. *Preventive Veterinary Medicine* **2018**, S0167587718303611, doi:10.1016/j.prevetmed.2018.10.001.
18. Schulz, K.; Schulz, J.; Staubach, C.; Blome, S.; Nurmoja, I.; Conraths, F.J.; Sauter-Louis, C.; Viltrop, A. African Swine Fever Re-Emerging in Estonia: The Role of Seropositive Wild Boar from an Epidemiological Perspective. *Viruses* **2021**, *13*, 2121, doi:10.3390/v13112121.
19. Mazur-Panasiuk, N.; Woźniakowski, G.; Niemczuk, K. The First Complete Genomic Sequences of African Swine Fever Virus Isolated in Poland. *Sci Rep* **2019**, *9*, 4556, doi:10.1038/s41598-018-36823-0.
20. Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol* **2016**, *33*, 1870–1874, doi:10.1093/molbev/msw054.
21. Chapman, D.A.G.; Darby, A.C.; Da Silva, M.; Upton, C.; Radford, A.D.; Dixon, L.K. Genomic Analysis of Highly Virulent Georgia 2007/1 Isolate of African Swine Fever Virus. *Emerg. Infect. Dis.* **2011**, *17*, 599–605, doi:10.3201/eid1704.101283.
22. Zani, L.; Forth, J.H.; Forth, L.; Nurmoja, I.; Leidenberger, S.; Henke, J.; Carlson, J.; Breidenstein, C.; Viltrop, A.; Höper, D.; et al. Deletion at the 5'-End of Estonian ASFV Strains Associated with an Attenuated Phenotype. *Sci Rep* **2018**, *8*, 6510, doi:10.1038/s41598-018-24740-1.
23. Sauter-Louis, C.; Forth, J.H.; Probst, C.; Staubach, C.; Hlinak, A.; Rudovsky, A.; Holland, D.; Schlieben, P.; Göldner, M.; Schatz, J.; et al. Joining the Club: First Detection of African Swine Fever in Wild Boar in Germany. *Transbound Emerg Dis* **2021**, *68*, 1744–1752, doi:10.1111/tbed.13890.
24. Sauter-Louis, C.; Schulz, K.; Richter, M.; Staubach, C.; Mettenleiter, T.C.; Conraths, F.J. African Swine Fever: Why the Situation in Germany Is Not Comparable to That in the Czech Republic or Belgium. *Transboundary Emerging Dis* **2022**, *69*, 2201–2208, doi:10.1111/tbed.14231.

### ***Genetic Variability of African Swine Fever Virus in Estonia***

*Aim of the study was to find suitable molecular markers to molecularly characterize African swine fever virus (ASFV) in Estonia and to clarify wheter the virus detected after 1,5 year of break is potentially a new entry or remnant of the ASFV from previous epidemic. Current study revealed no suitability of molecular markers successfully used in other georgraphical regions. Previously used B602L gene abeled to divide ASFV strains into two epidemiologically different clusters*

**Keywords:** African Swine Fever Virus, sequencing, molecular epidemiology

**Corresponding author:** [annika.vilem@student.emu.ee](mailto:annika.vilem@student.emu.ee)

## Taimsete jäätmete säästev kasutamine loomasööda tootmiseks

Dunja Malenica<sup>1\*</sup>, Marko Kass<sup>2</sup>, Rajeev Bhat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ERA-Chair for Food (By-) Products Valorisation Technologies (VALORTECH)

<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, söötmisteaduse õppetool

\*[dunja.malenica@student.emu.ee](mailto:dunja.malenica@student.emu.ee)

Hinnanguliselt läheb raisku keskmiselt üks kolmandik maailmas toodetud toidust, põhjustades ligikaudu 8% tekkivatest kasvuhoonegaasidest. (Huang jt., 2019). Seega tekib igal aastal maailmas umbes 1,3 miljardit tonni jäätmeid, millest 89 miljonit tonni Euroopa Liidus (EU Fusions, 2020). FAO hinnangul moodustavad taimsed jäätmed 60% kogu toidujäätmetest (FAO, 2011). Põllumajandus- ja toiduainesektoris tekib märkimisväärset hulgal jäätmeid ja kõrvalsaadusi. Tekkivad jäätmed ja/või kõrvalsaadused põhjustavad olulist keskkonnareostust, mis on suuresti tingitud praegustest mitesäästlikest käitlemismeetoditest, nagu prügilasse ladestamine või jäätmete veekogudesse viskamine. Lisaks seostub eelnev paljudele ettevõtetele ja toiduainetööstustele täiendavate kuludega (transpordikulud, lähteainekulud jne) (Stenmarck jt, 2016). Suure niiskusesisalduse tõttu on taimsed jäätmed rohkem aldis mikrobioloogilisele saastumisele, mis mõjutab negatiivselt keskkonda. Tänapäeval on taimsete jäätmete kasutamiseks välja töötatud mitmeid uudseid jäätmekäitlusstrateegiaid, millest üks hõlmab puu- ja juurviljajäätmete väärimist loomasöödana (Malenica ja Bhat, 2020). Kasvava rahvaarvuga on suurenenud nõudlus loomakasvatussaaduste järele, millele on eelnenud ka nõudlus uudsete loomasöötade järele. Sööda tootmise jätkusuutlikkus on aga seotud kahtluse alla, eriti arengumaades. Selle põhjuseks on biofüüsikalised tegurid nagu maa-, mulla- ja veepuudus, konkurents toiduainete, kütuse ja sööda vahel, jätkuv globaalne kliimasoojenemine, söödahindade tõus (nt mais, nisu, kalajahu ja sojasrott) ning olemasolevate söötade nappus (Wadhwa ja Bakshi, 2013). Taimsete jäätmete kasutamine loomasöödaks on paljulubav alternatiiv senikasutatud söödamerjalidele seoses neis sisalduvate bioaktiivsete ühenditega nagu polüfenoolid, kiudained, eeterlikud õlid, vitamiinid, mineraalained jne, mis omavad positiivset mõju looma tervisele (Kasapidou jt, 2015; Dulf jt, 2017; Zhu jt, 2019; Coman jt, 2019). Märgitud bioaktiivsetel ühenditel on leitud mitmeid tervist edendavaid toimeid nagu antimutageenne, antimikroobne, ning vähi-, põletiku-, diabeedi-, parasiitide-, algloomadevastane toime (Kowalska jt, 2017;

Kruzcek jt, 2017; Munir jt, 2017; Vodnar jt, 2017; Achilonu jt, 2018; Sagar jt, 2018; Skinner jt, 2018; Valdez-Arjona jt, 2019; Correddu jt, 2020).

Antud uurimuse eesmärgiks oli analüüsida viie kõrvalsaaduse – astelpaju pressjäägi, kanepiseemnekestad, õunapulbi, astelpajulehtede ja kaeraklii keemilist koostist. Nimetatud taimsed jäägid valiti tulenevalt nende kasutamisest piirkonnas, taimede omadusest ning võimalikust mõjust looma tervisele ja loomse saaduse koostisele. Analüüsiti keemilist koostist, mineraalainete, vitamiinide, aminohapete ja rasvhapete sisaldust, metaboliseeruva energia ja proteiini sisaldust ning antioksidantide analüüsise juures üldfenooli, difenüül-1-pikrüülhüdrasüüli ja kiudainete sisaldust. Kõrvalsaaduste ning jääkide utiliseerimise tähtsus loomasööda tootmisel seisneb sööda hinna alandamises, jätkusuutliku sööda tootmise saavutamises, taimsete jäätmete kõrvaldamisega seotud keskkonnasaaste vähendamises, põllumajandus- ja toiduainetööstuse säästlike kulude vähendamises, olemasoleva söödamerjalide nappuse probleemi lahendamises ning looma tervise parandamises, millele järgneb loomsete saaduste kvaliteedi paranemine.

### Kasutatud kirjandus

- Ciesarová, Z., Murkovic, M., Cejpek, K., Kreps, F., Tobolková, B., Koplík, R., Belajová, E., Kukurová, K., Daško, L., Panovská, Z. and Revenco, D., Burčová, Z. 2020. Why is sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) so exceptional? A review. *Food Research International*, 133:109170.
- Coman, V., Teleky, B.E., Mitrea, L., Martău, G.A., Szabo, K., Călinoiu, L.F., Vodnar, D.C. 2020. Bioactive potential of fruit and vegetable wastes. *Advances in Food and Nutrition Research*, 91:157–225. Academic Press.
- Correddu, F., Lunesu, M. F., Buffa, G., Atzori, A. S., Nudda, A., Battaccone, G., Pulina, G. 2020. Can Agro-Industrial By-Products Rich in Polyphenols be Advantageously Used in the Feeding and Nutrition of Dairy Small Ruminants? *Animals*, 10(1):131.
- Dulf, F.V., Vodnar, D.C., Dulf, E.H., Pintea, A. 2017. Phenolic compounds, flavonoids, lipids and antioxidant potential of apricot (*Prunus armeniaca* L.) pomace fermented by two filamentous fungal strains in solid state system. *Chemistry Central Journal*, 11(1):1–10.
- EU Fusions, 2020. Available online: <http://www.eufusions.org/index.php/component/acymailing/archive/view/listid-1/mailid-38-european-project-fusions-releases-eu-28-estimates-of-food-waste-levels-and-a-food-waste-quantification-manual?tmpl=component> (allikat kasutatud: 08.01.2023)
- FAO. 2019. The State of Food and Agriculture, Moving forward on food loss and waste reduction food and agriculture the state. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2019. Available online at: <http://www.fao.org/3/ca6030en/ca6030en.pdf> (allikat kasutatud: 08.01.2023).



- Huang, H. 2019. Tackling the Food Waste Problem. *Resource Magazine*, 26(6):25–26.
- Kasapidou, E., Sossidou, E., Mitlianga, P. 2015. Fruit and vegetable co-products as functional feed ingredients in farm animal nutrition for improved product quality. *Agriculture*, 5(4):1020–1034
- Kowalska, H., Czajkowska, K., Cichowska, J., Lenart, A. 2017. What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends in Food Science & Technology*, 67:150–159.
- Kruczek, M., Gumul, D., Kačániová, M., Ivanišhová, E., Mareček, J., Gambuś, H. 2017. Industrial Apple Pomace By-Products as A Potential Source Of Pro-Health Compounds In Functional Food. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 7(1):22.
- Malenica, Dunja, and Rajeev Bhat. “Current research trends in fruit and vegetables wastes and by-products management-Scope and opportunities in the Estonian context.” (2020).
- Munir, A., Sultana, B., Bashir, A., Ghaffar, A., Munir, B., Shar, G. A., Nazir, A, Iqbal, M. 2018. Evaluation of Antioxidant Potential of Vegetables Waste. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27(2).
- Sagar, N.A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E.M., Lobo, M.G. 2018. Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3):512–531.
- Skinner, R.C., Gigliotti, J.C., Ku, K.M., Tou, J.C. 2018. A comprehensive analysis of the composition, health benefits, and safety of apple pomace. *Nutrition Reviews*, 76(12):893–909.
- Valdez-Arjona, L.P., Ramírez-Mella, M. 2019. Pumpkin Waste as Livestock Feed: Impact on Nutrition and Animal Health and on Quality of Meat, Milk, and Egg. *Animals*, 9(10):769.
- Vodnar, D.C., Călinoiu, L.F., Dulf, F.V., Ștefănescu, B.E., Crișan, G., Socaciu, C. 2017. Identification of the bioactive compounds and antioxidant, antimutagenic and antimicrobial activities of thermally processed agro-industrial waste. *Food Chemistry*, 231:131–140.
- Wadhwa, M., Bakshi, M.P.S. 2013. Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as substrates for generation of other value-added products. *Rap Publication*, 4:1–67.
- Zhu, M., Huang, Y., Wang, Y., Shi, T., Zhang, L., Chen, Y., Xie, M. 2019. Comparison of (poly) phenolic compounds and antioxidant properties of pomace extracts from kiwi and grape juice. *Food Chemistry*, 271:425–432.

### ***Sustainable utilization of vegetal waste to produce livestock feed***

*Enormous amounts of wastes and by-products are produced globally from agri-food sector. These wastes and/or by-products contribute significantly to the environmental pollution due to current unsustainable disposal methods such as landfill and discarding the wastes in water bodies. They also represent a high economical cost for many companies and food processing industries. Due to high moisture, vegetal waste is more prone to microbiological contamination which negatively affects environment. Nowadays there have been a number of novel wastes management strategies for utilization of vegetal waste. Utilization of vegetal waste for animal feed is a promising alternative for current feed material as it is highly under exploited source of bioactive compounds, which have been proven as highly beneficial in animal health. The importance of waste utilization in animal feed production lies in decreasing the price of animal feed, achieving sustainable animal feed production, reducing the environmental pollution related to vegetal waste disposal, reducing economical costs of agrifood industries.*

**Keywords:** *animal feeds, bioactive compounds, by-products, valorization*

Corresponding author: [dunja.malenica@student.emu.ee](mailto:dunja.malenica@student.emu.ee) (Dunja Malenica)

## Piimaveiste võimalikud heaoluprobleemid aastaringsetes karjatamissüsteemides

Eveli Somelar<sup>1\*</sup>, David Arney<sup>1</sup>, Joaquim Fernando Moreira Da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, söötmisteaduste õppetool

<sup>2</sup>University of the Azores, Faculty of Agrarian Sciences and Environment, Department of Animal Reproduction

\*[eveli.somelar@emu.ee](mailto:eveli.somelar@emu.ee)

### Sissejuhatus

Piimatoodete nõudlus ja suured kulud piimatootmisel on viinud piimatööstuse intensiivistumiseni. Vajadus on vähendada kulusid ning tõsta loomade efektiivsust ehk toodangut. Seetõttu on piimalehmade karjatamine nii Euroopas kui ka USA-s märgatavalt vähenenud. Euroopas on piimalehmade aastaringset laudas pidamine peamine lüpsilehmade pidamisvorm ja aastaringset karjatamissüsteemid või piiratud karjatamisega süsteemid on järkjärgult vähenenud (Reijs jt, 2013). Piimakarja osaline või täielik karjatamine on praktiseeritav riikides, kus karjatamine on kohustuslik nagu Rootsis, ja riikides, kus see on olnud pikalt traditsiooniks, nt Iirimaa, Suurbritannia, Madalmaad (Reijs jt, 2013; Arnott jt, 2017) ja Portugalile kuuluv Assooride saarestik (de Almeida jt, 2021). Üldiselt peetakse veiste karjatamist karjamaal parimaks heaolu tagamise vahendiks, kuid lüpsilehmade heaolu aastaringsete karjamaapõhiste süsteemide raames ei ole laialdaselt teaduslikult uuritud ja selle kohta tehtud hinnangud ei põhine teaduslikel avastustel.

Aastaringset laudas peetavate lüpsilehmade pidamissüsteem on osutunud väga kasulikuks veiste toodangu suurendamisel, kuid piimakarja keskmine eluiga on madalam kui lehmade loomulik eluiga (De Vries ja Marcondes, 2020), viidates puudustele ja probleemidele loomade heolus. Arnott koos kolleegidega (2017) tõi esile karjatamisel põhinevate süsteemide kasulikkust loomade tervisele võrdlusena pidevalt siseruumides peetavate süsteemidega. Näiteks karjamaal viibivatel loomadel esines vähem lonkamist, kannakahjustusi, mastiiti ja emakahaigusi. Samuti paranes nende loomulik käitumine ja sai täheldada veiste üldist eelistust karjamaa suhtes, kui see valik neile anti. Sellegipoolest peidab lüpsilehmade karjatamine endas ohte ja negatiivseid tegureid – ekstreemsed ilmastikutingimused, külma- või kuumastress, parasiidid, erinevad bioloogilised

ohud ja kokkupuuted metsloomadega (Arnott jt, 2017; Mee ja Boyle, 2020). Käesoleva projekti eesmärk on välja selgitada karjatamisel põhinevate pidamissüsteemide negatiivsed mõjud ja tegurid ning hiljem teha ettepanekuid murettekitavate valdkondade ja puuduste käsitlemiseks, vaadeldes selliseid süsteeme nagu Assooridel kasutatav aastaringne lüpsilehmade karjatamine.

### Ilmastikutingimused

Kokkupuude ekstreemsete ilmastikutingimustega nagu vihm, tuul, päikesekiirgus, õhutemperatuur ja suhteline õhuniiskus, võib põhjustada loomadel käitumuslikke ja füsioloogilisi reaktsioone. Need mõjutavad looma negatiivselt läbi kehatemperatuuri ja hingamissageduse tõusu või vähenenud sööda tarbimise ja aktiivsuse tõttu (Ominski jt, 2002; Schütz jt, 2009; Tucker jt, 2007). Tihti puudub loomadel karjamaal võimalus varjuda, mis esitab farmerile väljakutse karjamaa haldamisel nii, et oleks tagatud loomade heaolu (Mee ja Boyle, 2020).

### Külma- ja kuumastress

Lüpsilehmad võivad kogeda lühi- ja pikaajalist kuumastressi ning kannatada seetõttu kuumastressist tingitud negatiivsete mõjude all (Becker jt, 2020). Kuumastressi võib esineda igas kliimavööndis olenevalt aastaajast (Beede ja Collier, 1986). Külmastress on probleemiks veisepidajatele, kes peavad oma loomi karjamaal põhjapoolkeral (Angrecka jt, 2015). Varasemalt on leitud, et nii kuuma- kui ka külmastress vähendavad piimatoodangut (Lambertz jt, 2014, Angrecka jt, 2015). Lisaks võib kuumastress suurendada piimas sisalduvate soomaatiliste rakkude arvu (Hammami jt, 2013) ning vähendada piimas üldvalgu ja üldrasva kogust (Hill ja Wall, 2015; Hammami jt, 2015; Bernabucci jt, 2015).

### Parasiidid

Siseparasiidid ehk seedetrakti parasiitidega nakatumine on karjamaal püsiv riskitegur, nagu on näidanud mitmed varasemad epidemioloogilised uuringud (Arnott jt, 2017). Kuigi karjatatavatel veistel tekib parasiitide suhtes teatud immuunsus nendega varajases eas kokku puutel, ei ole see täielik (Agneessens jt, 2000; Borgsteede jt, 2000). Parasiitnakkused mõjutavad negatiivselt lüpsilehmade toodangut ja heaolu (Charlier jt, 2009). Välisparasiidid, nagu sääsed ja parmud, tekitavad loomadele ärritust ja valu. Kärsed mõjuvad neile tülikalt ning häirivalt, ja puugid levitavad või kannavad edasi haigusi (Perttu jt, 2020; Zintl jt, 2017).

## Söötmine

Karjatatavatel lüpsilehmadel on suurem toitainete puuduse oht. Varasemad uuringud on näidanud, et karjamaal peetavatel lehmadel on võrreldes lautades peetavatega madalam vatsa täituvus (Olmos jt, 2009), negatiivne energiabilanss (Olmos jt, 2009; Nakajima ja Yayota, 2019), madalam kehakaal ja toitumushinne (Fontaneli jt, 2005; Mee ja Boyle, 2020). Karjamaa on seotud ka metaboolsete haiguste riskiga: nt. karjamaatetaania ehk hüpomagneseemia (Littledike jt, 1981) ja vahutav puhitus ehk vatsa tümpaania (Wang jt, 2012).

## Jäsemehaigused ja -probleemid

Kuigi karjamaal peetavatel veistel on täheldatud vähem jäsemeprobleeme ja -haigusi (Arnott jt, 2017) on karjamaal mitmeid ohutegureid. Peamised riskitegurid lonkamise tekkeks karjamaal on kõrgenenud traumade oht, pikkade vahemaade läbimine ja korrastatud teede või radade puudumine (Hund jt, 2019).

## Haigused

Karjatatavatel lüpsilehmadel on risk haigestuda suvisesse mastiiti, mida põhjustavad putukate kaudu levivad patogeened *Streptococcus dysgalactae* ja *Arcanobacterium pyogenes* (Arnott jt, 2017; Armbrecht jt, 2019; Mee ja Boyle, 2020), lisaks kujutavad endast ohtu metsloomad ning nende kaudu või naaberloomadelt edasikanduvad haigused (Arnott jt, 2017). Samuti on karjamaal asuvatel lehmadel täheldatud suurenenud kõhulahtisuse riski (Armbrecht jt, 2019) ja ohtu allaneelata mürgiseid taimi (Mee ja Boyle, 2020).

## Kokkuvõte

Lehmade karjatamist peetakse parimaks vahendiks tagamaks kõrget heaolu, kuid lüpsilehmade heaolu aastaringsel karjatamisel põhinevas süsteemis ei ole laialdaselt teaduslikult uuritud ja selle kohta antavad hinnangud ei põhine teaduslikel avastustel. Karjatamisel võivad loomad puutuda kokku järgmiste negatiivsete teguritega: ekstreemsed ilmastikutingimused, välis- ja siseparasiidid, haigused ja bioohutusega seonduvad riskid. Uuringu eesmärgiks on uurida süvitsi seni hinnangutena esitatud negatiivseid mõjusid ja riske ning hiljem anda soovitusi murettekitavate valdkondade ja puuduste käsitlemiseks, tagamaks loomadele parim võimalik heaolu. Uuring viiakse läbi Assooridel, kus aastaringselt lüpsilehmi karjamaal peetakse.

## Kasutatud kirjandus

- Agneessens, J., Claerebout, E., Dorny, P., Borgsteede, F. H., & Vercruysee, J. (2000). Nematode parasitism in adult dairy cows in Belgium. *Veterinary Parasitology*, 90(1-2), 83-92.
- Angrecka, S., Herbut, P., Mishra, G., Jena, B., Dar, M., & Bhat, A. (2015). Conditions for cold stress development in dairy cattle kept in free stall barn during severe frosts. *Czech Journal of Animal Science*, 60(2), 81-87
- Armbrecht, L., Lambertz, C., Albers, D., & Gauly, M. (2019). Assessment of welfare indicators in dairy farms offering pasture at differing levels. *Animal*, 13(10), 2336-2347.
- Arnott, G., Ferris, C. P., & O'connell, N. E. (2017). Welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal*, 11(2), 261-273.
- Becker, C. A., Collier, R. J., & Stone, A. E. (2020). Invited review: Physiological and behavioral effects of heat stress in dairy cows. *Journal of dairy science*, 103(8), 6751-6770.
- Beede, D. K., & Collier, R. J. (1986). Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *Journal of animal science*, 62(2), 543-554.
- Bernabucci, U., Basiricò, L., Morera, P., Dipasquale, D., Vitali, A., Cappelli, F. P., & Calamari, L. U. I. G. I. (2015). Effect of summer season on milk protein fractions in Holstein cows. *Journal of dairy science*, 98(3), 1815-1827.
- Borgsteede, F. H., Tibben, J., Cornelissen, J. B., Agneessens, J., & Gaasenbeek, C. P. (2000). Nematode parasites of adult dairy cattle in the Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 89(4), 287-296.
- Charlier, J., Höglund, J., von Samson-Himmelstjerna, G., Dorny, P., & Vercruysee, J. (2009). Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: impact on production, diagnosis and control. *Veterinary parasitology*, 164(1), 70-79.
- de Almeida, A.M., Alvarenga, P. & Fangueiro, D. (2021). The dairy sector in the Azores Islands: possibilities and main constraints towards increased added value. *Trop Anim Health Prod* 53, 40.
- De Vries, A., & Marcondes, M. I. (2020). Overview of factors affecting productive lifespan of dairy cows. *Animal*, 14(S1), s155-s164
- Fontaneli, R. S., Sollenberger, L. E., Littell, R. C., & Staples, C. R. (2005). Performance of lactating dairy cows managed on pasture-based or in freestall barn-feeding systems. *Journal of dairy science*, 88(3), 1264-1276.
- Hammami, H., Bormann, J., M'hamdi, N., Montaldo, H. H., & Gengler, N. (2013). Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. *Journal of dairy science*, 96(3), 1844-1855
- Hammami, H., Vandenplas, J., Vanrobays, M. L., Rekik, B., Bastin, C., & Gengler, N. (2015). Genetic analysis of heat stress effects on yield traits, udder health, and fatty acids of Walloon Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4956-4968.

- Hill, D. L., & Wall, E. (2015). Dairy cattle in a temperate climate: the effects of weather on milk yield and composition depend on management. *Animal*, 9(1), 138-149.
- Hund, A., Logroño, J. C., Ollhoff, R. D., & Kofler, J. (2019). Aspects of lameness in pasture based dairy systems. *The Veterinary Journal*, 244, 83-90.
- Lambertz, C., Sanker, C., & Gauly, M. (2014). Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 319-329.
- Littledike, E. T., Young, J. W., & Beitz, D. C. (1981). Common metabolic diseases of cattle: ketosis, milk fever, grass tetany, and downer cow complex. *Journal of Dairy Science*, 64(6), 1465-1482.
- Mee, J. F., & Boyle, L. A. (2020). Assessing whether dairy cow welfare is “better” in pasture-based than in confinement-based management systems. *New Zealand Veterinary Journal*, 68(3), 168-177.
- Nakajima, N., & Yayota, M. (2019). Grazing and cattle health: a nutritional, physiological, and immunological status perspective. *Animal Behaviour and Management*, 55(4), 143-153.
- Olmos, G., Mee, J. F., Hanlon, A., Patton, J., Murphy, J. J., & Boyle, L. (2009). Peripartum health and welfare of Holstein-Friesian cows in a confinement-TMR system compared to a pasture-based system. *Animal Welfare*, 18(4), 467-476.
- Ominski, K. H., Kennedy, A. D., Wittenberg, K. M., & Nia, S. M. (2002). Physiological and production responses to feeding schedule in lactating dairy cows exposed to short-term, moderate heat stress. *Journal of Dairy Science*, 85(4), 730-737.
- Perttu, R. K., Heins, B. J., Phillips, H. N., Endres, M. I., Moon, R. D., & Sorge, U. S. (2020). Effects of mesh leggings on fly pressure and fly avoidance behaviors of pastured dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 846-851.
- Reijs, J. W., Daatselaar, C. H. G., Helming, J. F. M., Jager, J. H., & Beldman, A. C. G. (2013). *Grazing dairy cows in North-West Europe: economic farm performance and future developments with emphasis on the Dutch situation*. LEI Wageningen UR.
- Schütz, K. E., Rogers, A. R., Cox, N. R., & Tucker, C. B. (2009). Dairy cows prefer shade that offers greater protection against solar radiation in summer: Shade use, behaviour, and body temperature. *Applied Animal Behaviour Science*, 116(1), 28-34.
- Zintl, A., Moutailler, S., Stuart, P., Paredis, L., Dutraive, J., Gonzalez, E., ... & Gray, J. (2017). Ticks and Tick-borne diseases in Ireland. *Irish Veterinary Journal*, 70(1), 1-10.
- Tucker, C. B., Rogers, A. R., Verkerk, G. A., Kendall, P. E., Webster, J. R., & Matthews, L. R. (2007). Effects of shelter and body condition on the behaviour and physiology of dairy cattle in winter. *Applied Animal Behaviour Science*, 105(1-3), 1-13.
- Wang, Y., Majak, W., & McAllister, T. A. (2012). Frothy bloat in ruminants: cause, occurrence, and mitigation strategies. *Animal feed science and technology*, 172(1-2), 103-114.

### ***Possible welfare problems in pasture-based dairy systems***

*Grazing cattle on pastures is perceived as the best means of welfare, however, dairy cow welfare within year-round pasture-based systems, has not been widely scientifically studied, and judgement on this is not based on scientific findings. Cattle grazing can leave animals exposed to negative factors such as extreme weather conditions, parasites, diseases and biosecurity risks. The aim of this study is to find out the negative implications and the areas of concern and deficiencies identified so far and subsequently make recommendations to address the factors of concern and deficiencies to ensure the best possible welfare of the animals. Particularly in regard to in pasture-based year-round grazing systems as practised in the Azores.*

**Keywords:** dairy, cattle, grazing, welfare,

Corresponding author: [eveli.somelar@emu.ee](mailto:eveli.somelar@emu.ee) (Eveli Somelar)



## Astelpajulehed hobuse söödalisandina

Kerttu Keir, Marko Kass\*

EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, söötmisteaduse õppetool

\*marko.kass@emu.ee

### Sissejuhatus

Astelpaju (*Hippophae rhamnoides* L.) on Euroopast ja Aasiast pärinev okkiline põõsas, mida on sajandeid kasutatud peamiselt meditsiinilistel ja toiduks kasutamise eesmärkidel (Gradt jt, 2017). Viimastel aastatel on Euroopas suurenenud nõudmine tervislike puuviljatoodete ja värskete puuviljade järele toonud kaasa ka astelpaju viljade ja kasvatusalade populaarsuse olulise tõusu. 2022. aasta mahepõllumajandusliku taimekasvatuse sektori ülevaate kohaselt on astelpaju üks populaarsemaid puuviljakultuure Eestis, mida kasvatatakse 1339 hektaril (PRIA, 2022). Väärrib märkimist, et astelpajukasvatus on Eestis viimase kümne aastaga suurenenud kaks korda.

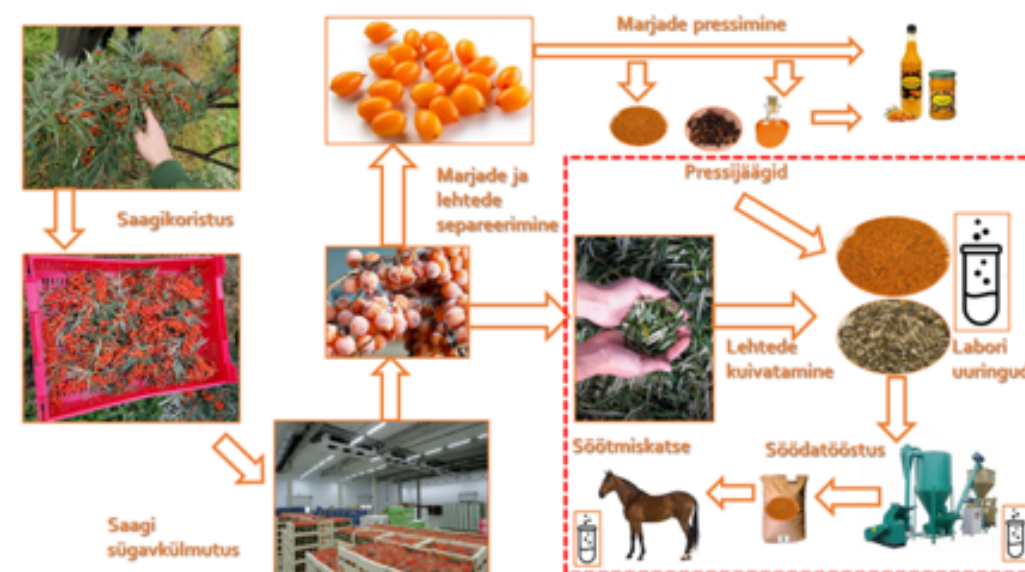
Erinevad autorid on väitnud, et astelpaju lehed on sama väärtuslikud kui marjad, mis sisaldavad märkimisväärses koguses fütokemikaale ja toitaineid nagu flavonoolid, fenoolhapped, kondenseeritud tanniinid, karotenoidid, füstosteroolid, B-rühma vitamiinid ja mineraalaineid nagu P, K, Mg jt (Guan jt, 2005; Hellström jt, 2014; Jaroszevska ja Biel, 2017; Gradt jt, 2017). Veelgi enam, ka noortel paju võrsetel on lehtedega võrreldes sarnane bioaktiivsete ainete sisaldus (Michel jt, 2012). Seega omavad astelpaju kasvatamisel tekkivad kõrvalsaadused nagu marjapressijäägid ja lehed märkimisväärset potentsiaali söödalisandis väärindatuna.

Käesoleva projekti peamine eesmärk on astelpaju marjade ja lehtede töötlemisel saadavate kõrvalsaaduste väärindamine hobuse söödalisandites. Lisaks on eesmärgiks laboratoorse uuringute ja söötmiskatsete kaudu luua hobustele sobivad bioaktiivseid aineid sisaldavad kuivasöödasegud, et edendada loomade tervist.

### Projekti kirjeldus

Kolm aastat kestev projekt on jagatud viieks töopaketi, hõlmates nii kõrvalsaaduste laboratoorseid analüüse, kuivasöödasegude arendust kui

söötmisuuringuid hobustega (joonis 1). Esmalt kogutakse kohaliku astelpaju tootmise kõrvalsaadused nagu marja pressimisjääd, seemned ja lehed ning analüüsitakse nende keemiline koostis, sh bioaktiivsete ainete sisaldus, ja toiteväärtus. Järgnevalt koostatakse kõrvalsaadusi sisaldavad retseptid ning pannakse kokku kuivasöödasegud eri vanuses hobustele. Kolmandas etapis valmistatakse söödatööstuses kõrvalsaadusi sisaldavad hobuse kuivasöödasegud. Järgnevas etapis viiakse läbi valitud kuivasöödasegudega pilootkatse hobustega, kus hinnatakse loomade söömiskäitumist, maitse-eelistusi ja mõju tervisele. Seejärel viiakse valitud kuivasöödasegudega läbi söötmiskatse hindamaks bioaktiivsete ainete mõju tervisenäitajatele.



**Joonis 1.** Astelpaju saagikoristusest ja töötlemisest kuni söötmiskatseteni valmistatud söödalisandiga.

### Kokkuvõte

Nii marjades kui lehtedes sisalduvad vitamiinid, mineraalained, fenoolsed ühendid ja asendamatud rasvhapped jäävad töötlemisel ka kõrvalsaadustesse, omades olulist perspektiivi põllumajandusloomade söötmisel. Kolm aastat kestva projekti eesmärgiks on kohalikus marjakasvatuses tekkivate astelpajumarjade töötlemisel saadavate kõrvalsaaduste nagu lehed väärindamine hobuse söödalisandites.

## Tänuõnad

Käesolev artikkel on seotud (PRIA) MAK meetmetest rahastatud 16.2 projektiga „Astelpajukasvatuse jääkide väärimine hobuse söödalisingina“, mille taotlejaks oli OÜ Trocos Trade.

## Kasutatud kirjandus

- Gradt, I., Kühn, S., Mörsel, J.-T., Zvaigzne, G. 2017. Chemical composition of sea buckthorn leaves, branches and bark. *Proc Latvian Academy Sci. Section B*, 71(3):211–216.
- Guan, T.T.Y., Cenkowski, S., Hydamaka, A. 2005. Effect of Drying on the Nutraceutical Quality of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *sinensis*) Leaves. *J. Food Sci.* 70(9):E514–E518.
- Hellström, J., Pihlava, J.-M., Kauppinen, S. 2015. Phytosterols and flavonols in sea buckthorn leaves. In: Kauppinen, S., Petruneva, E. (eds.). Producing Sea Buckthorn of High Quality. *Proc. 3rd Workshop on Sea Buckthorn EuroWorkS2014. Natural resources and bio-economy studies.* 31:50–53.
- Jaroszewska, A., Biel, W. 2017. Chemical composition and antioxidant activity of leaves of mycorrhized sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Chilean J. Agric. Res.* 77:155–162.
- Michel, T., Destandau, E., Le Floch, G., Lucchesi, M. E., Elfakir, C. 2012. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chem.* 131(3):754–760.
- PRIA. 2022. Mahepõllumajanduse ja maheloomakasvatuse ülevaade. Põllumajanduskultuuride taotlemise ülevaade 2015-2022. <https://www.pria.ee/infokeskus/statistika/muud> (viimati külastatud: 26.01.2023)

## Seabuckthorn leaves as a feed additive for horse

*Seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.) cultivation has increased twice in the last ten years in Estonia. Seabuckthorn is a thorny shrub native to Europe and Asia and has been used for centuries mostly for medical and nutritional purposes. In recent years, higher demands on healthy fruit products and fresh fruits in Europe have led to the significant increase in the popularity of the fruit and cultivation areas of sea buckthorn. The main aim of the project is to value the by-products (including leaves) obtained during the processing of sea buckthorn berries in the company in horse feed additives. The main goal is to create dry fodder mixtures suitable for sports and young horses, containing bioactive substances (polyphenols, pectins, lipophilic antioxidants, etc.), thereby having a health-promoting effect through laboratory research and feeding experiments.*

**Keywords:** seabuckthorn, by-products, bioactive components, feed ingredients

Corresponding author: [marko.kass@emu.ee](mailto:marko.kass@emu.ee) (Marko Kass)

## Piimarasva rasvhappeline profiil – abivahend lüpsilehmade söötmise optimeerimisel

Merike Henno<sup>1\*</sup>, Meelis Ots<sup>1</sup>, Kaivo Ilves<sup>2</sup>, Aire Pentjärv<sup>2</sup>

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, söötmisteaduse õppetool

<sup>2</sup>Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS

\*[merike.henno@emu.ee](mailto:merike.henno@emu.ee)

Lüpsilehmade tervise ja heaolu parandamiseks ning piimakarja majandusliku efektiivsuse suurendamiseks pööratakse üha rohkem tähelepanu igakuistest jõudluskontrolli piimaproovi analüüsist saadava teabe kasutusvaldkondade laiendamisele. Eesti Tõuloomakasvatavate Ühistu ja Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS eestvedamisel algas 2021. aastal projekt „Eesti piimaveiste kasumlikkuse suurendamine uute aretusväärtuste väljatöötamise ja kasutuselevõtmisega ning farmide e-aretusplaanide väljaarendamine“. Projekti ühe alateema „Piimarasva rasvhappeline profiili info kogumine ja eelduste loomine informatsiooni kasutamise rakenduste väljatöötamiseks“ eesmärgiks on luua võimekus farmi tankipiima piimaproovidest piimarasva rasvhappeline profiili info kogumiseks ja tulemuste kasutamiseks piimalehmade söötmissalaseks nõustamiseks Eesti farmides.

Käesoleval hetkel pakub farmeritele sarnast teenust meie projekti üks välispartner (Lactanet Canada). Teenus baseerub tankipiimast määratava kolme erineva päritoluga rasvhapete (RH) grupi (*de novo* RH, valmis RH ja eriliigilised RH) sisalduste (g/100 g piimas) dünaamika jälgimisel ja võrdlemisel analoogsete farmide vastavate tulemustega. Söödaratsiooni ja söötiskorralduse teoreetiline seos nimetatud rasvhapete gruppide osakaaluga piimarasvas tuleneb nende erinevast päritolust. 1. *De novo* RH on udaranäärme sünteesitavad (prekursoriks vatsa lenduvad RH) rasvhapped. 2. Valmis RH (ingl. keeles preformed) on udarasse verest otse ülekantavad rasvhapped, mille osakaalu mõjutavad kõige rohkem ratsiooni koostis ja rasvkoost mobiliseeritavate rasvhapete osakaal. 3. Eriliigilised RH (ingl. keeles mixed), mis võivad pärineda nii *de novo* sünteesist udara näärmekoes kui verest.

Käesolevaks hetkeks on EPJ poolt loodud võimekus piimaproovides 14 rasvhappe ja/või rasvhapete grupi sh eelpool nimetatud gruppide (*de novo* RH, valmis RH ja eriliigilised RH) sisalduste, määramiseks. Koostöös

partnerfarmidega alustatakse tankipiimade rasvhappeline profiili seiret ja samaaegset söötiskorraldust iseloomustavate andmete kogumist, millede põhjal luuakse edasiseks andmeanalüüsiks vajalikud andmebaasid.

### Tänuavaldus

Projekti (nr 616221790103) finantseerib Maaeluministerium Eesti maaelu arengukava (MAK) 2014-2020 meetme 16.2 raames.

### *Milk fatty acid profile - a tool for optimising dairy cows feeding*

*To improve the health and well-being of dairy cows and to increase the economic efficiency of dairy herds, growing attention is paid to expanding the uses of information from routine DHI (dairy herd improvement) milk sample analyses. In 2021, the Animal Breeders' Association of Estonia and the Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS launched the project „Increasing the profitability of Estonian dairy cattle by developing and implementing new breeding values and creating e-breeding plans for farms“. One of the aims of this project is to create the capability to collect milk fat profile information from bulk tank milk samples and use the results for supporting farmers in optimising the feeding of dairy cows. One of the project's external partners (Lactanet Canada) already offers a similar service to farmers. The service is based on monitoring the dynamics of the content of three groups of fatty acids (de novo, preformed, mixed) of different origins in bulk tank milk samples and the comparison of these results with appropriate cohort of herds.*

**Keywords:** dairy cow, milk fatty acids, feeding

Corresponding author: [merike.henno@emu.ee](mailto:merike.henno@emu.ee) (Merike Henno)

## Milk Extracellular Vesicles as a potential tool for early-stage detection of Insulin Resistance in dairy cows

Madhusa Prasadani<sup>1,\*</sup>, Hanno Jaakson<sup>2</sup>, Vallo Volke<sup>3</sup>, Aneta Andronowska<sup>4</sup>, Suranga Kodithuwakku<sup>1,5</sup>, Alireza Fazeli<sup>1,3,6</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Estonian University of Life Sciences, Estonia.* <sup>2</sup>*Chair of Animal Nutrition, Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Estonian University of Life Sciences, Estonia.* <sup>3</sup>*Department of Pathophysiology, Institute of Biomedicine and Translational Medicine, Faculty of Medicine, Tartu University, Estonia.* <sup>4</sup>*Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Poland.* <sup>5</sup>*Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Peradeniya, Peradeniya, Sri Lanka.* <sup>6</sup>*Academic Unit of Reproductive and Developmental Medicine, Department of Oncology and Metabolism, Medical School, University of Sheffield, UK.*

\*[madhusa.gamage@emu.ee](mailto:madhusa.gamage@emu.ee)

Dairy industry is a crucial section of the Estonian agriculture and livestock production. The health status of dairy cattle plays a foremost role on their performance. At the peripartum stage, cows undergo a coordinated drift in metabolism to energy partition towards mammary tissues to meet the high demand of this tissue for milk production. This may lead to a metabolic stress leading to development of insulin resistance (IR) affecting the health status of the animal and reduce the milk yield. The existing methods of IR diagnosis in cows include invasive sampling, skilled personals, advanced laboratory facilities and mostly diagnosis at relatively advanced stages of the disease. Thus, there is a huge requirement for novel, non-invasive diagnostic approach for cow metabolic diseases. Extracellular vesicles (EVs) are membranous nano-sized particles released by all types of cells and involved in intercellular signalling. EVs have vital roles in maintaining the homeostasis in mammals and hence their association in determining the pathophysiology of disease diagnosing has been widely appreciated. Therefore, the present study was designed to enrich bovine milk EVs from raw milk samples with the intention of using them to detect the early stages of incidence of IR in dairy cattle. The raw bovine milk was collected and centrifuged to eliminate the fat and the resultant defatted milk was then treated with acetic acid to remove casein. The final whey solution was concentrated and was subjected to size exclusion chromatography (SEC) based EV enrichment protocol. The Nanoparticle tracking analysis results depicted the highest concentrations of nano-particles/EVs in the fractions 5, 6, 7 and 8

from 20 fractions eluted in SEC with an average diameter of 100–200 nm. The Transmission electron microscopy results further corroborated the typical EV morphology of spherical cup shape with a bilayer structure. EV protein marker analysis confirmed the presence of trans membrane proteins CD63, CD81 and cytosolic protein TSG101 in the enriched EVs. Thus, it was concluded that EVs were successfully enriched using the above-described methodology. Currently, in-depth analysis and investigations are being conducted on further study of the potential usage of milk EVs as a non-invasive diagnostic mean to identify IR at the early stage of incidence in dairy cows.

**Keywords:** Bovine milk, IR diagnosis, Non-invasive, Extra-cellular vesicles



## LivestockSense – Täppispidamise kasutamine Eesti seakasvatusektoris: suhtumine ja rakendamist takistavad tegurid

Alo Tänavots<sup>1,4\*</sup>, Andres Aland<sup>2</sup>, Eugen Kokin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Eesti Maaülikool, veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, tõuaretuse ja biotehnoloogia õppetool

<sup>2</sup>Eesti Maaülikool, veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetool

<sup>3</sup>Eesti Maaülikool, metsanduse ja inseneria instituut, energiakasutuse õppetool

<sup>4</sup>Eesti Maaülikool, veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool

\*alo.tanavots@emu.ee

### Sissejuhatus

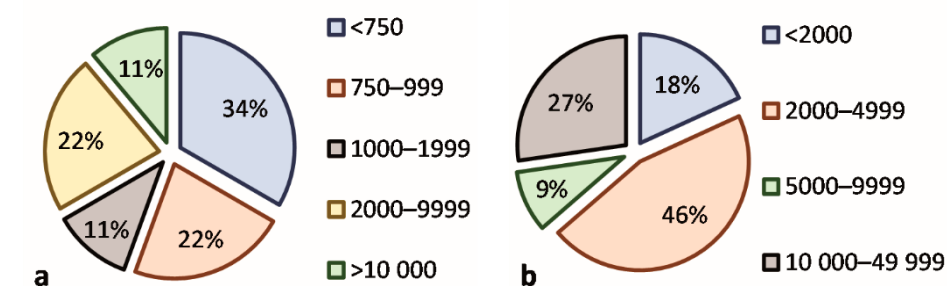
Info- ja kommunikatsioonitehnoloogial (IKT) põhinevate vahendite kasutamine põllumajanduses on oluline vaba turumajanduse tingimustes konkurentsipüsimeks. Tootmisfarmide jälgimine ja protsesside juhtimine IKT abil võimaldab adekvaatselt reageerida loomade vajadustele ning suurendab tootmise efektiivsust ja selle tarbija poolt oodatud läbipaistvust, parandab toodangu kvaliteeti ning loomade tervist ja heaolu, vähendab tööõnnetuste riski ning aitab langetada seakasvatusest tulenevat keskkonnasaaste taset (Tullo jt, 2019; Vranken ja Berckmans, 2017). Samas on IKT-vahendite propageerimine ja kasutuselevõtt loomakasvatuse suur väljakutse. Euroopa põllumeestel puuduvad teadmised mõistmaks IKT-põhise täppispidamise (*Precision Livestock Farming*, PLF) eeliseid (Hartung jt, 2017). PLF on defineeritud kui loomakasvatustootmise juhtimine protsessitehnika põhimõtete ja tehnoloogiate abil (Wathes jt, 2008) ning see tugineb loomade ja nendega seotud keskkonna parameetrite automaatsele jälgimisele erinevate nutikate tuvastustehnoloogiate abil. Ehkki kaasaegsed IKT-lahendused parandavad loomakasvatuse keskkonnaalast ja majanduslikku jätkusuutlikust, pole põllumajandustootjad alati uutele tehnoloogiatele avatud, kuna ei osata näha selle rakendamise eeliseid ja saadavat kasu (Parasuraman, 2000). Jätkusuutliku loomakasvatuse arendamine nõuab IKT-vahendite laiemat

kasutuselevõttu takistavate tegurite ületamist. Seetõttu on rahvusvahelise projekti *LivestockSense* põhieesmärgid 1) parandada seakasvatuselevõtte majanduslikku ja keskkonnaalast elujõulisust kaasaegse IKT rakendamise abil ja 2) tuvastada ja pakkuda lahendusi IKT kasutuselevõtu takistuste kõrvaldamiseks, saavutamaks selle laiem kasutamine sigalates. *LivestockSense* projekti on kaasatud ka väärtusahela teised osapooled, näiteks tehnoloogiaarendajad ja poliitikakujundajad, et uurida nende suhtumist täppispidamisse ning mõista loomakasvatusektorile pandavaid ootusi.

### Materjal ja meetoodika

Uurimaks Eesti seakasvatavate hoiakuid PLF-vahendite kasutamisest ja takistustest IKT-põhiste tehnoloogiate rakendamisel viidi novembrist 2021 kuni veebruarini 2022 läbi kvantitatiivne küsitlusuuring. Küsitlusele vastas kokku 11 seakasvatajat, kellest kaks tegeles nuumsigade kasvatamisega ja üheksa esindasid täistsüklilist seafarmi. Ühe täistsüklilise farmi esindaja vastas, et tema sigalates ei kasutata nutitehnoloogiaid ega kavatseta neid rakendada ka lähitulevikus.

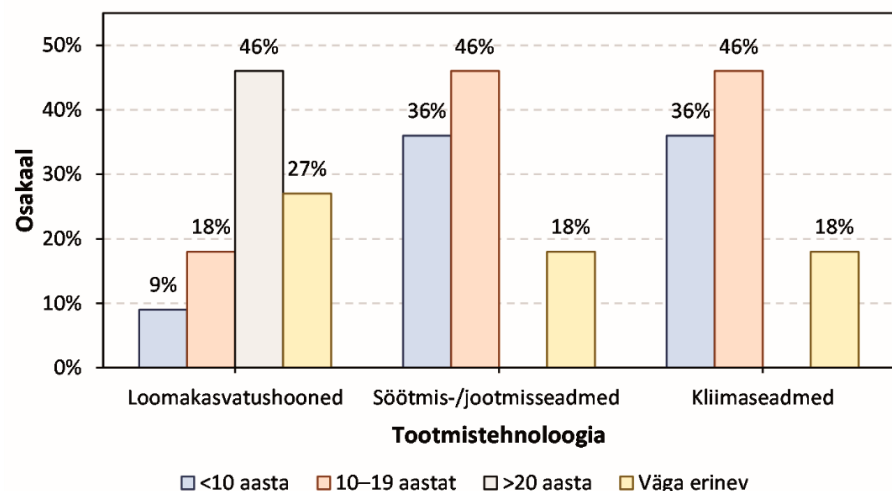
Veidi üle 2/3 vastanud seakasvatavatest olid üle 50 aasta vanad ning vanusegruppidesse 30–39 ja 40–49 aastat kuulus võrdselt 18% vastanutest. Farmiesindajatest üle poole (56%) märkisid emiste arvuks alla 1000, kusjuures veidi üle kolmandikul (34%) oli neid vähem kui 750 (joonis 1a). Ligi pooltes farmides (46%) peeti 2000–4999 nuumsiga ja üle veerandi (27%) märkis nende arvuks üle 10 000 (joonis 1b).



**Joonis 1.** Emiste (a; n = 9) ja nuumikute (b; n = 11) suurusklasside osakaalud farmides

Taustaküsitlusest selgus, et seakasvatashooned olid valdavalt vanad, olles ligi pooltel (46%) üle 20 aasta vanused (joonis 2). Veidi üle veerandi (27%) loomakasvatashoonete kohta aga märgiti, et need olid väga erineva vanusega. Samas olid seakasvatavad investeerinud söötmis- ja kliimaseadmetesse, mistõttu

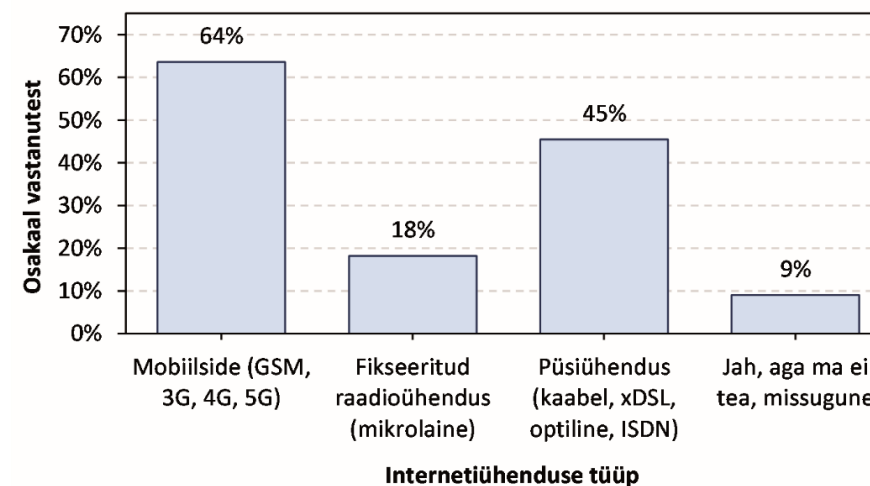
olid neist mõlemad üle kolmandiku (36%) alla 10 aasta vanad ning alla poole (46%) vanusega 10–19 a. Kusjuures ainult üle 20 aasta vanuseid seadmeid üheski sigalal polnud.



**Joonis 2.** Sigalate tootmistehnoloogia keskmine vanus (n = 11)

### Tulemused ja arutelu

Nutitehnoloogiareakendamise juures on sageli oluline, et need oleks ühendatud internetiga. See võimaldab lisaks seadmete omavahelisele suhtlemisele ka reaalajas ligipääsu andmetele. Üle pooltel (64%) vastanutest oli sigalates võimalik kasutada interneti mobiilside kaudu (joonis 3). Kuna sigalad paiknevad sageli suurematest keskustest kaugel, jäädes seega mobiilside levimise äärealale, siis ei pruugi selline lahendus tagada stabiilset internetiühendust. Veidi alla poolte (45%) vastanutest aga omas oluliselt kindlamat püsühendust.



**Joonis 3.** Internetiühenduse kasutamise võimalused sigalates (n = 11)

Jooniselt 4 on näha, et 90% sigalatest oli varustatud sigade jälgimise seadme(te)ga, mis eeldatavalt tulenes eelnevate aastate loomade heaolu toetuse nõuetest, mille järgi pidi sigade pidamise ruumi olema paigaldatud vähemalt üks loomi jälgiv kaamera. Üks vastanutest kavatses sellise lahenduse tulevikus ka soetada.

Üle poolte (76%) sigalatest oli varustatud õhukvaliteedi ja sisekliima jälgimise seadmetega, kuid viiendik polnud sellistest seadmetest huvitatud. Samas on sigalate sisekliima ja nende õhu kvaliteet üks sigade tervise võtmeteguritest, mõjutades otseselt seakasvatuse kasumlikkust. Sellise funktsionaalsusega statsionaarseid sensoreid oli 30% sigalates ja 50% kavatses selliseid seadmeid edaspidi kasutusele võtta.

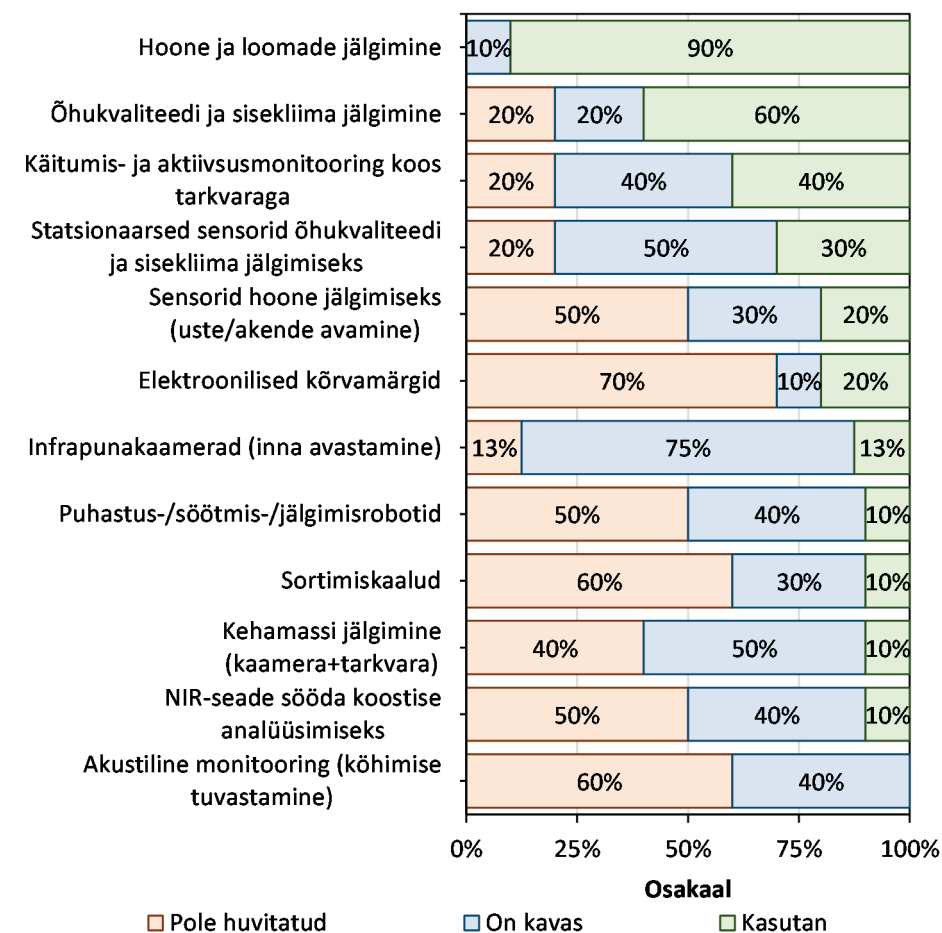
Sigade käitumis- ja aktiivsuse seire oli kasutusel 40% farmides ja sama palju soovis seda tehnoloogiat ka tulevikus rakendada. Tulenevalt sabade kärpimise aktuaalsusest võimaldaks sellise tehnoloogia rakendamine tuvastada kisklemiskäitumist. Samuti võimaldab aktiivsusemonitooring tuvastada loomade haigusest või vigastusest tingitud käitumishäireid.

Üksolulisemaid abivahendeid, mida tervelt kolmveerand vastanud seakasvatajatest sooviks soetada, oli emiste inna määramisel kasutatav infrapunakaamera. Ainult ühes farmis oli see seade juba kasutusel. Emiste praakimispõhjuste uuringu andmetel (Tänavots jt, 2022) oli erinevate sigimishäirete tõttu praakimine esimesel kohal; sel põhjusel praagiti ligi pooled emikutest. Ilmselt on see seade väga oluline, et parandada emiste karjaspüsivust ja vähendada põhikarja taastootmiskulusid.

Pooled küsitlusele vastanud seakasvatajatest tundsid huvi ka sigade kehamassi juurdekasvu jälgimise süsteemi vastu, mis koosneb kaamerast ja tarkvarast. Selline süsteem võimaldab sigade juurdekasvu alusel analüüsida söödakasutust ja seda optimeerida. Teatavasti on sööt seakasvatustes suurimaid kuluallikaid.

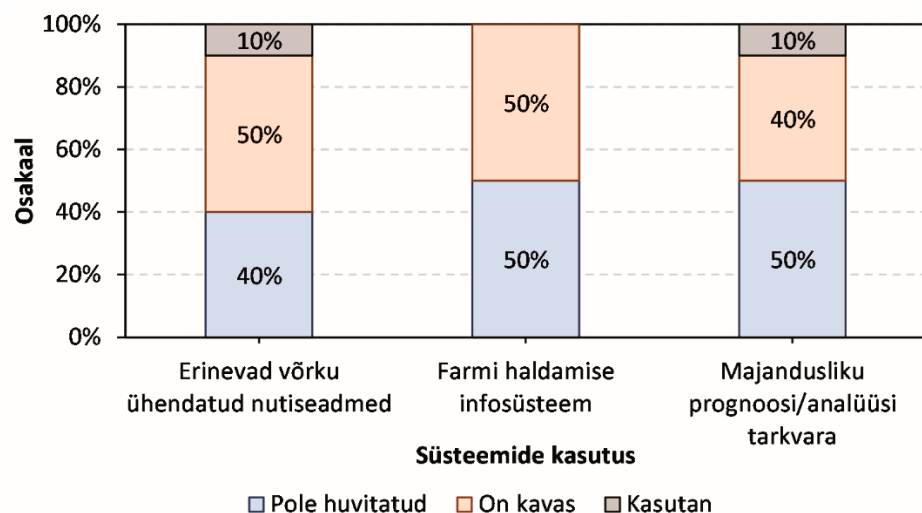
Mõnevõrra üllatuslikult polnud 70% seakasvatajatest huvitatud elektroonilistest kõrvamärkidest (EID), mis võimaldaks nutitehnoloogiate kasutamisel sigu kiiresti tuvastada. Külli Kersteni (Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontroll AS) andmetel olid 2021. a sellised EID-märgid kõigist jõudluskontrollialustes karjadest kasutusel ainult neljas farmis (isiklik kontakt).

Seade, mida ei leidunud üheski küsitlusele vastanud seakasvataja karjas, oli akustiline seiresüsteem, mis võimaldab köhimise karakteristikute tuvastamise kaudu hinnata sigade tervislikku seisundit. Ennetava hingamisteede probleemide tuvastamise abil võimaldab süsteem vähendada antibiootikumide kasutamist ja hoiduda võimaliku antibiootikumiresistentsuse kujunemise eest karjas. Paraku on sigade sage köhimine ka halva õhukvaliteedi üheks indikaatoriks (tolm, ammoniaak jms), mis võib viia tõsiste tervisekahjustuse tekkeni. On mõistetav, et sellist seadet sooviks omada 40% vastanud seakasvatajatest.



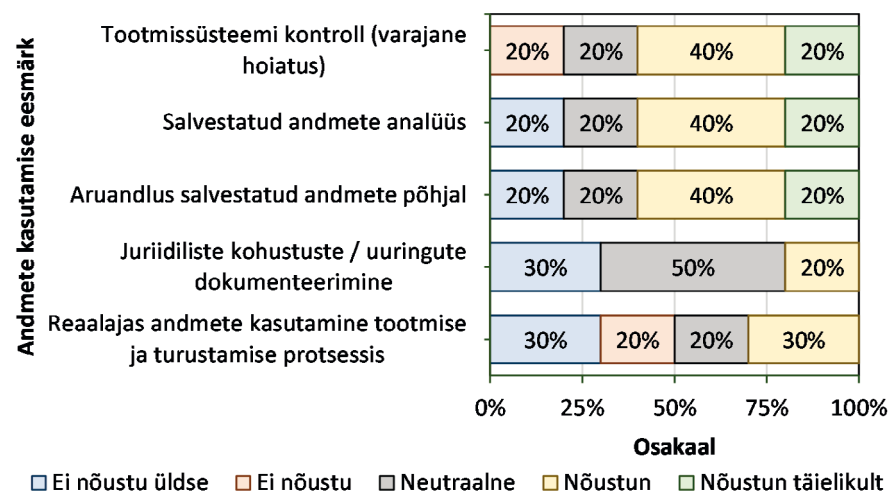
**Joonis 4.** Nutiseadmete/-tehnoloogiate kasutamine sigalates

Ainult 10% vastanud seakasvatajatest kasutas sigalates võrku ühendatud nutiseadmeid ja majanduslik olukorra analüüsi tarkvara. Samas esimest sooviks kasutada 50 ja teist 40% (joonis 5). Spetsiaalset farmi haldamise tarkvara ei kasutanud ükski vastanutest, kuid 50% sooviks sellist lahendust omada. Tulemus oli mõnevõrra üllatav, kuna farmi haldamis- ja analüüsitarkvara kasutamine võimaldab jälgida ettevõtte majandustulemusi ja aitab teha tulevikku suunatud otsuseid. Seega oleks oodanud suuremat huvi selliste süsteemide kasutamiseks.



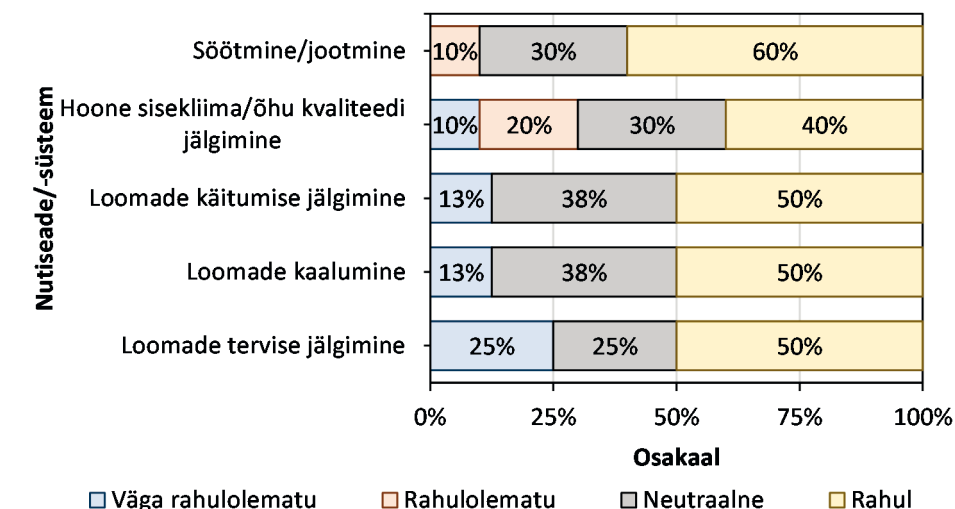
**Joonis 5.** Erinevate süsteemide kasutamine sigalates (n = 10)

Seakasvatavad kasutasid nutisüsteemidest saadud andmeid peamiselt (60%) tootmise ebakõlade tuvastamiseks, andmete analüüsiks ja aruandluseks (joonis 6). Üllatavalt vähe seakasvatajaid kasutas sel teel saadud andmeid seadusandja poolt kehtestatud kohustuste täitmiseks ning tootmise ja turustamise protsessi analüüsiks. Viimane võib olla tingitud ka sellest, et kasutuses olnud nutitehnoloogia on suunatud pigem sigade heaolu tagamiseks, milliseid andmeid ei saa alati muul otstarbel kasutada.



**Joonis 6.** Nutitehnoloogiatega saadud andmete (väljundite) kasutamise eesmärk sigalates (1: ei nõustu üldse ... 5: nõustun täielikult) (n = 10)

Jooniselt 7 selgub, et ükski vastanud seakasvataja polnud kasutatava nutitehnoloogiaga täielikult rahul. Samas rahulolu nendega väljendasid umbes pooled (40–60%) vastanutest, kusjuures rohkem oldi rahul söötmise/jootmise süsteemidega (60%) ning vähem sisekliima/õhu kvaliteedi (30%) ja loomade tervise jälgimise (25%) seadmetega.



**Joonis 7.** Seakasvatajate rahulolu hetkel kasutatavate nutiseadmetega (1: väga rahulolematu ... 5: väga rahul) (n = 10)

Nutisüsteemid ei asenda täielikult inimest, kuna need ei oska veel piisavalt täpselt farmis tekkivaid olukordi analüüsida, mistõttu võivad mõned probleemid jääda märkamata ja hiljem võimenduda. Samal seisukohal olid ka kõik küsitlusele vastanutest (joonis 8). Teine oluline aspekt, mida polnud küll mainitud, kuid on eelnevaga seotud, oli see, et sead on uudishimulikud ja otsivad kontakti, mistõttu on oluline, et neil oleks positiivne kokkupuude inimesega (nt talitaja). Seeläbi on nendega hiljem lihtsam ümber käia (nt veterinaaril). Seega saab nutitehnoloogia olla seakasvatajale kasulikuks abivahendiks, kuid mitte täielikult tööjõu asendajaks. See aga tähendab, et väljundandmeid kasutav töötaja peab olema hea analüütilise mõtlemisega ja oskama olukordi adekvaatselt hinnata. 80% vastanutest leidis aga, et selliste omadustega töötaja leidmine on raske, mistõttu võib kasutaja jaoks tarkvaraga töötamine tunduda keerukas (50%) ja andmete analüüsile kuluda oodatust enam aega (50%).

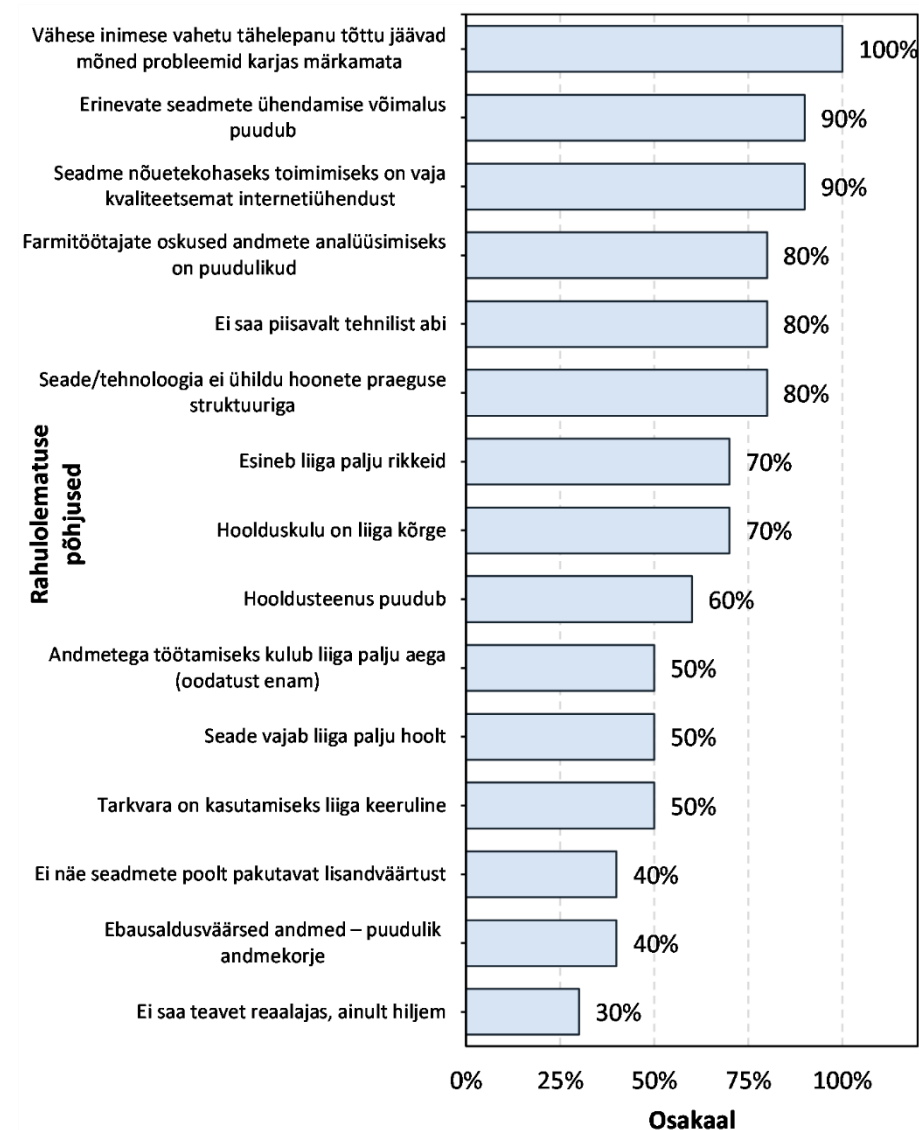


Täppispidamise rakendamine seakasvatuses nõuab, et erinevad protsessid oleks omavahel integreeritud, mis hõlbustaks majandamisotsuste langetamist. Samas puudub nutisüsteemidel ühtne standard, mis võimaldaks erinevatel seadmetel omavahel ühilduda ja suhelda. Kõik tootjad aga ei pruugi pakkuda täislahendust, mis sobiks kindlasse tootmiskeskkonda. Samuti võib probleeme tekkida sama tootja vanemate ja uuemate seadmete vahel. Ka leidis 90% vastanutest, et seadmete vahelised ühendusprobleemid võivad takistada nutitehnoloogia rakendamist ja 80% arvas, et täppispidamisseadmeid on raske olemasolevatesse seakasvatushoonetesse või tootmissüsteemidesse integreerida.

Nagu eelpool selgus (joonis 3), sõltuvad paljud seakasvatavad internetiühenduse tagamisel oma farmides mobiilside kvaliteedist nende piirkonnas. Vastanutest 90% nõustus, et kvaliteetse internetiühenduse puudumine võib IKT-vahendite laiemalt kasutusele võtmisel saada takistuseks.

Igasugune automaatikat kasutatav seade, olgu see siis nutikas või mitte, vajab korralist hooldust ja rikete korral asjatundlikku tehnilist tuge. Kuna meil on seakasvatavaid vähe ja seetõttu vastavate spetsiifiliste seadmete turuosa väike, siis leidsid seakasvatavad, et tehnilist abi on raske saada (80%) või see puudub mõnel juhul sootuks (60%). Kuna seadmetel esineb palju rikkeid (70%) ja need vajavad liialt sagedast hooldust (50%), siis puudulik hooldusteenus tähendab paljude vastanute arvates (70%) omakorda seadmete kõrgeid hoolduskulusid.

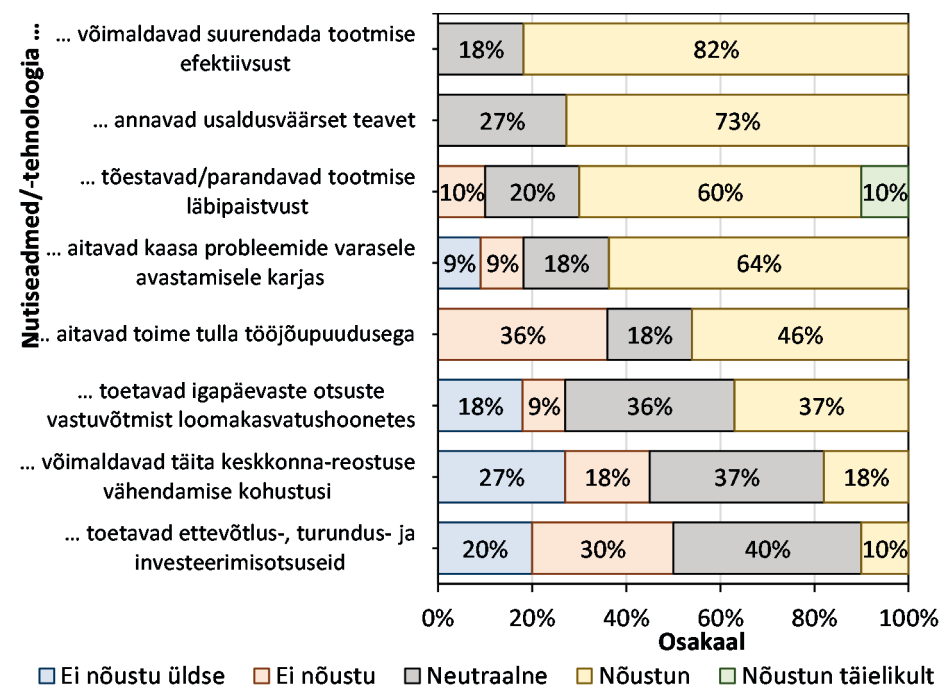
Küll aga olid seakasvatavad seisukohal ja rahul, et nutiseadmed pakuvad lisandväärtust (60%) ja neist saadav info on usaldusväärne (60%) ning andmed on koheselt kättesaadavad (70%).



**Joonis 8.** Seakasvatavate nutiseadmetega rahulolematuse põhjused (n = 10)

Suurem osa seakasvatavaid oli nõus, et nutitehnoloogia aitab suurendada tootmise efektiivsust (82%) ja selle läbipaistvust (70%) (joonis 9). Kuna nutiseadmed registreerivad tulemusi sensori(te) abil reaaliajaks, siis peetakse selliselt kogutud teavet ka piisavalt usaldusväärseks (73%). Juba eespool sai välja toodud, et nutitehnoloogia on seakasvatavale heaks abivahendiks ja 64%

vastanutest nõustub, et see aitab kaasa probleemide varajasele avastamisele karjas ja mõnevõrra leevendab ka tööjõupuudust (45%). Väga üllatav oli tõdeda, et pooled vastanud seakasvatajatest leidsid, et nutiseadmetest saadav teave ei aita neil lihtsustada majandamisotsuste vastuvõtmist. Küll aga toetab see mõnevõrra otsuste langetamist farmides kohapeal (36%). Samas on täppispidamise rakendamise eesmärgiks just loomakasvatuse tootmisprotsesside juhtimise hõlbustamine, mis aitaks suurendada tootmise kasumlikkust. Samuti ei usuta, et nutitehnoloogia saaks olla abiks keskkonna saastamise vähendamisel (45%) ja seeläbi aidata kaasa rohepöörde elluviimisel. Siiski võiksid hoonetes ja lägalaguunides olevad õhukvaliteedi sensorid aidata mõõta näiteks lenduva ammoniaagi (NH<sub>3</sub>) kontsentratsiooni.



**Joonis 9.** Seakasvatajate suhtumine nutiseadmetesse/-tehnoloogiasse (1: ei nõustu üldse ... 5: nõustun täielikult)

## Kokkuvõte ja järeldused

Innovatsioon seakasvatases on ülioluline, et toime tulla loomade heaoluga seotud sotsiaalse ja sisendhindade tõusust tingitud majandusliku survega. Suurem informatsiooni ja teadmiste hulk aitab parandada tootmise läbipaistvust. Samas ei osata ilmselt veel täielikult näha sellest infohulgast saadavat kasu, mistõttu oleks vaja seakasvatajatele mudelfarmi, et tutvustada täppispidamise pakutavaid võimalusi ja eeliseid tootmise efektiivistamiseks. Küll aga leitakse, et nutitehnoloogia on heaks abivahendiks karja seisukorra hindamisel, mis siiski ei saa asendada täielikult inimest. Nutitehnoloogia rakendamist takistavad ka mitmed tegurid nagu halb internetiühendus, puudulik tehniline tugi ja seadmete kõrged hoolduskulud. Samuti on raske leida töötajaid, kes oleksid suutelised selliste seadmete tööd korraldama. Hilisemast kvalitatiivsest uuringust selgus ühe takistusena ka halb energiavarustuskindlus, mis tekitab häireid automaatikasüsteemides.

Digitehnoloogiad on üliolulised, et EL muutuks 2050. aastaks kliimaneutraalseks, mis on seatud eesmärgiks Euroopa rohelises kokkuleppes. Kõik põllumajandustootjad ei võta nutitehnoloogiaid kiirelt omaks ja paljud ei tea, mida oodata või puuduvad neil kasutamiseks vajalikud teadmised. Tehnoloogia valik on keeruline ja seakasvatajate toetamiseks napib nõustamisteenuseid. Seega eeldab digitaalse põllumajanduse täieliku potentsiaali realiseerimine kõigi väärtusahelas osalejate koostööd ja selget nägemust, kuidas digitaalsete süsteemide võimalusi parimal moel ära kasutada. Seni on ELi tasandi teadus- ja innovatsioonitegevus keskendunud peamiselt PLF-i vahendite tehnoloogilisele arendamisele. Põllumeeste valmisolekut seda omaks võtta ei ole peaaegu käsitletud, vähe on tähelepanu pööratud ka sotsiaalsele aspektile, st farmerite teadmistele ja suhtumisele olemasolevatesse PLF-i seadmetesse. See aga piirab nutitehnoloogiate laialdasemat kasutamist seakasvatases.

## Rahastamine

Projekti rahastus pärineb Euroopa Liidu teadus- ja innovatsiooniprogrammi Horisont 2020 lepingust nr 861665 ERA-NET ICT-Agri-Food.

## Tänuõnad

Autorid tänavad Eesti Tõusigade Aretusühistut, AS Rakvere Farmid ja Atria Farmid OÜ küsitluse levitamise eest. Palju tänu seakasvatajatele, kes leidsid aega küsitlusele vastamiseks.

## Kasutatud kirjandus

Hartung, J., Banhazi, T., Vranken, E., Guarino, M. 2017. European farmers' experiences with precision livestock farming systems. *Animal Frontiers*, 7(1):38–44. doi: 10.2527/af.2017.0107

Parasuraman, A. 2000. Technology readiness index (tri): a multiple-item scale to measure readiness to embrace new technologies. *Journal of Service Research*, 2:307–320. doi: 10.1177/109467050024001

Tänavots, A., Põldvere, A., Liping, T., Laanemaa, R. 2022. Emiste praakimise põhjused ning nende seos poegimiskorra ja praakimisaastaga. Konverentsi “Terve loom ja tervislik toit 2022” artiklite kogumik, 2.–3. märts 2022, 144–156.

Tullo, E., Finzi, A., Guarino, M. 2019. Review: environmental impact of livestock farming and precision livestock farming as a mitigation strategy. *Science of The Total Environment*, 650:2751–2760. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.018

Vranken, E., Berckmans, D. 2017. Precision livestock farming for pigs. *Animal Frontiers*, 7:32–37. doi: 10.2527/af.2017.0106

Wathes, C.M., Kristensen, H.H., Aerts, J., Berckmans, D. 2008. Is precision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall. *Computers and Electronics in Agriculture*, 4:2–10. doi: 10.1016/j.compag.2008.05.005

### ***Livestocksense – The use of precision farming in the Estonian pig farming sector: attitudes and factors hindering its implementation***

*A quantitative survey was used to understand pig farmers' attitudes towards PLF tools to identify barriers for the limited adoption of ICT based technologies. The results revealed that not all farmers are quick to adopt ICT, many lack the necessary knowledge to request or use services. The choice of technology is complex and there is a lack of advisory services to support farmers.*

**Keywords:** pig production, precision livestock farming, perception, attitude

Corresponding author: [alo.tanavots@emu.ee](mailto:alo.tanavots@emu.ee) (Alo Tänavots)

## Eesti suurtes piimakarjades peetavate lehmade karjast väljamineku ja eluea pikkusega seotud tegurid ja tegurirühmad

**Kerli Mõtus<sup>1</sup>, Dagni-Alice Viidu<sup>1</sup>, Triin Rilanto<sup>1</sup>, Tarmo Niine<sup>2</sup>, Toomas Orro<sup>1</sup>, Arvo Viltrop<sup>2</sup>, Stephanie Bougeard<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, kliinilise veterinaarmeditsiini õppetool

<sup>2</sup>EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetool

<sup>3</sup>Prantsuse toidu-, keskkonna- ja töötervishoiuagentuur, epidemioloogia teaduskond

\*[kerli.motus@emu.ee](mailto:kerli.motus@emu.ee)

### Sissejuhatus

Käesoleva töö eesmärk oli analüüsida erinevate farmipõhiste tegurite ja nende rühmade, sh karja juhtimine, pidamispraktikad, -keskkond ja nakkushaiguste esinemise tähtsust lehmade karjast väljaminekule ja eluea pikkusele.

### Uurimistöö metoodika

Uuringus osales 120 vabapidamisega lüpsikarja, milles peeti  $\geq 100$  lehma. Farmivisiitide käigus koguti andmeid viimase aasta pidamispraktikate, farmi tööprotsesside jm kohta ning hinnati farmi keskkonda ja lehma. Igast karjast koguti tankipiima proovid ja mullikate vereproovid (10 proovi karja kohta) ning analüüsiti veiste herpesviirus 1 (VHV-1), veiste viirusdiarröa viiruse (VVDV), veiste respiratoor-süntsütsiaalviiruse (VRSV), paratuberkuloosi, *Mycoplasma bovis*'e ja *Salmonella* Dublin'i vastaste antikehade suhtes. Kokku saadi andmed 169 potentsiaalse riskiteguri kohta, mis koondati 14sse teemaplokki. Iga karja kohta arvutati visiidile eelnenud aasta Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli (EPJ) ASi ja Põllumajanduse Registrite ja Informatsiooni Ameti (PRIA) andmete põhjal lehmade praakimisrisk (PR, %), suremusrisk (SR, %) ja lehmade keskmine vanus praakimisel (KVP). Mitmeplokilist osalist vähimruutude meetodit (Wold jt, 1984) kasutades analüüsiti teemaplokkide osatähtsust lehmade karjast väljaminekut ja eluea pikkust summeeriva sõltuvate

muutujate ploki osas (sisaldas PR, SR ja KVPd) ning tuvastati individuaalsete tegurite seos kolme sõltuva muutujaga eraldi.

### Tulemused ja arutelu

Sõltuvate muutujate ploki mõjutasid olulisel määral järgmised teemaplokid: „sigivus“ (ploki tähtsus kõigist plokkidest 16,3%), „nakkushaigused“ (13,6%), „lakteerivate lehmade pidamine“ (11,5%), „lüpsmine“ (11,3%), „karja tunnused“ (10,1%), „ettesöötmissperioodi pidamine“ (9,7%), „poegimisperioodi pidamine“ (7,9%) ja „ternespiimaperioodi pidamine“ (6,5%).

Lehmade inna tuvastamise meetod ja tiinuse diagnoosimise strateegiad olid sigivuse ploki sisalduvad olulised tegurid, mis seostusid lehmade karjas püsimumist ilmestavate sõltuvate muutujatega. Karjades, kus  $\geq 20\%$  hinnatud lehmadest olid keha tagaosa ja udara kahjustused, olid PR ja SR oluliselt kõrgemad ning KVP madalam. Aktiivne VRSV ja VVDV levimus karjas ning vaktsineerimine VHV-le vastu seostus kõrgemate PR ja SR ning madalama KVPga. Ühekordse kuiva paberi või harja kasutamine nisade puhastamiseks ja nisade märgpuhastusest loobumine olid kõrge SRga seostuvad praktikad. Robotlüpsisüsteemiga farmides oli oluliselt madalam SR ja kõrgem KVP kui kaks või kolm korda päevas lüpsvates farmides. Lehmade karjatamine ja poolsoojustatud lautades pidamine seostusid madalama PRga. Kõrge poegimiseelne toitumushinne ja tugevalt määrdundud lehmade kõrgem osakaal ( $\geq 30\%$ ) seostusid kõrgema karja PR ja SRiga. Karjades, kus lehma ja mullikaid peeti ettesöötmissperioodil samas rühmas, oli madalam SR. **Sügavallapanuga rühmaedikutes poegimise korral oli karja keskmine PR madalam.**

### Kokkuvõte ja järeldused

Lehmade karjas püsimumise parandamiseks tuleks enim tähelepanu pöörata lehmade hea sigivuse tagamisele ja nakkushaiguste tõrjele. Erilist rõhku tuleks panna lautade sisseseadele, et tagada lehmade mugavus, hea hügieen ning vältida vigastuste teket. Lehmade karjas püsimumise parendamiseks on oluline vältida poegimiseelset ülesöötmist ja järgida häid lüpsihügieeni tavasid. Lehmade grupeerimise strateegiatel on oluline mõju nende karjas püsimumisele.

### Tänuõnad

Oleme väga tänulikud uuringus osalenud farmidele. Täname EPJ ASi ja PRIAt uuringuks vajalike andmete edastamise eest. Uurimistööd finantseeris Eesti Teadusagentuur (personaalse uurimistoetuse grant PSG268).

### Kasutatud kirjandus

Wold, S., Ruhe, A., Wold, H., Dunn, W.J., 1984. The collinearity problem in linear regression. The partial least squares (PLS) approach to generalized inverses. SIAM J. Sci. Stat. Comput. 5(3):735–743.

### *Risk factors and factor blocks associated with cow culling and longevity in large Estonian dairy herds*

*The objective of the present study was to analyze the importance of different factors and thematic blocks of production areas, management and herd infectious disease status on the cow losses characterized by herd on-farm mortality risk (MR), culling risk (CR) and mean age of culled cows (MAofCC). In order to reduce cow losses and improve longevity, most attention should be put on cow fertility management and infectious disease control. Special emphasis should be put on barn installation ensuring acceptable cow comfort and hygiene as well as to avoid injuries. To ensure cow endurance, it is essential to avoid over-conditioning before calving and assure sufficient milking hygiene practices. Grouping practices around calving have substantial impact on cow longevity.*

**Keywords:** dairy cow, culling, longevity, risk factors, multiblock analysis

Corresponding author: Kerli.Motus@emu.ee





Euroopa Maaelu Arengu  
Põllumajandus- ja  
Euroopa Investeeringud  
maapirkondadesse