



Nitrat til grise

1. Den mikrobielle aktivitet i forskellige tarmafsnit hos unge grise tildelt nitratholdigt drikkevand

Bent Borg Jensen, Afd. for Dyrefysiologi og Biokemi

Martin Tang Sørensen og Hanne Damgaard Poulsen, Afdelingen for Forsøg med Svin og Heste

Tidligere forsøg har vist, at grise kan tåle endog store mængder nitrat (op til 2000 ppm) og moderate mængder nitrit (op til 17 ppm) i drikkevandet. Der blev derfor iværksat forsøg, der havde til formål, dels at undersøge hvorledes mikrofloraens sammensætning/aktivitet i forskellige afsnit af mave-tarmkanalen hos unge grise var påvirket af nitratholdigt drikkevand, og dels at klarlægge mikrofloraens betydning for nitrat- og nitritomsætningen i mave-tarmsystemet hos unge grise.

Der blev i nærværende undersøgelse fundet, at tilsætning af nitrat til drikkevandet havde en positiv virkning på produktionsresultaterne. Resultaterne viste, at store mængder nitrat i drikkevandet påvirker sammensætningen og aktiviteten af den mikrobielle population i grisens mave-tarmkanal. Hos grisene, der fik tildelt nitratholdigt drikkevand, blev der således iagttaget en øget mikrobiel aktivitet i maven og de første afsnit af tyndtarmen, en stigning i populationen af lactobaciller i maven, en øget mælkesyrekoncentration i maven og de første afsnit af tyndtarmen og et fald i populationen af coliforme bakterier i hele tarmsystemet. Hos grisene fra nitratholdet blev der kun målt nævneværdige mængder nitrat i maven. Dette sammenholdt med den stigning i mængden af ammoniak, der blev iagttaget i maven og de første afsnit af tyndtarmen hos disse grise, og med den stigning, der blev fundet i populationen af lactobaciller i maven, antyder stærkt, at det tildelte nitrat omsættes til ammoniak af mikrofloraen allerede i maven hos grisene.

Indledning

Som følge af det stigende indhold af nitrat i grundvandet i Danmark, har interessen for, hvorvidt nitratholdigt drikkevand er skadeligt for husdyr og mennesker været stigende gennem de seneste år. Forsøg har imidlertid vist, at grise kan tåle endog store mængder nitrat i drikkevandet (Medd. nr. 750 Statens Husdyrbrugsforsøg).

Nitrat er i sig selv ufarligt, hvorimod nitrit, som kan dannes ud fra nitrat er giftigt. En del bakterier er i stand til at reducere nitrat til nitrit. Imidlertid er kendskabet til, hvorledes mikrofloraen påvirker nitrat- og nitritomsætningen i mavetarmsystemet hos grise, ringe.

I denne og den følgende meddelelse beskrives forsøg, der havde til formål dels at undersøge, hvorledes mikrofloraens sammensæt-

ning/aktivitet i forskellige afsnit af mavetarmkanalen hos unge grise var påvirket af nitratholdigt drikkevand og dels at klarlægge mikrofloraens betydning for nitrat- og nitritomsætningen i mave-tarmsystemet hos unge grise.

Materiale og metoder

I forsøget indgik ialt 8 stk. ca. 7 uger gamle grise (kuldsøskende), der blev fordelt på to hold (to galte og to sogrise pr. hold). Det ene hold fik tildelt nitratfrit drikkevand, og det andet drikkevand tilsat 2000 ppm nitrat.

Grisene blev individuelt opstaldet. De blev fodret efter norm to gange dagligt med en byg-hvede-soyaskrå baseret blanding. De blev tildelt 1,5 l vand pr. dag ved forsøgets start stigende til 2,0 l pr. dag ved forsøgets afslutning, efter mindst 21 dage på de givne diæter. Vandet blev tildelt to gange dagligt blandet med foderet.

Registreringen omfattede foder- og vandtildeling samt tilvækst og gødningskonsistens. Der blev ikke behandlet mod diarré i forsøgsperioden. Ved forsøgets afslutning blev grisene aflivet to timer efter morgenfodring ved venøs injektion af en overdosis af 20% pentobarbitalnatrium, hvorefter mave-tarmkanalen hurtigt blev fritlagt og delt op i tolv stykker, som vist i fig. 1.

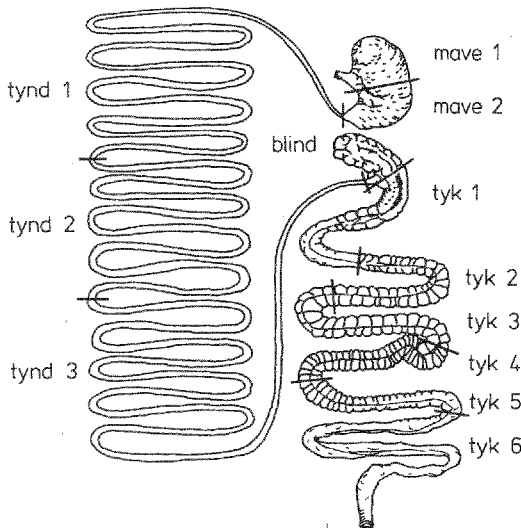


Fig. 1. Opdelingen af mave-tarmsystemet i de 12 segmenter for prøveudtagning.

Resultater

Virkningen af nitrattilsætning til drikkevandet på grisenes tilvækst og foderudnyttelse er vist i tabel 1. Resultaterne viste, at nitrat absolut ikke har nogen hæmmende virkning, hverken på grisens tilvækst eller på foderudnyttelsen. Tværtimod blev der iagttaget en signifikant stigning i både tilvækst og foderudnyttelse på det hold, der fik nitratholdigt drikkevand.

Tabel 1. Virkningen af nitrat i drikkevand på unge grisenes vækst

2000 ppm NO ₃	-		+	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
Vægt ved indsættelse	21,2 ± 0,2		20,1 ± 0,5	
Vægt ved slagtning	36,8 ± 1,0		39,1 ± 0,7	
kg tilvækst	15,7 ^a ± 0,9		19,0 ^b ± 1,0	
Daglig tilvækst, g	531 ^a ± 26		646 ^b ± 17	
FEs/kg tilvækst	2,06 ^a ± 0,11		1,73 ^b ± 0,07	

Resultater inden for samme linie med forskellige bogstaver er signifikant ($p \leq 0,05$) forskellige.

De fysiske/kemiske egenskaber i de forskellige tarmafsnit hos de to hold grise er vist i tabel 2. Selv om tørstofindholdet i tarmindeholdet hos de grise, der fik nitratholdigt drikkevand, var signifikant lavere end hos kontrolholdet, var diarréfrekvensen hos grisene på forsøgholdet ikke højere end hos kontrolholdet. For begge holds vedkommende blev der kun konstateret diarré hos én gris i en kort periode (2–3 dage).

Der var ingen signifikant forskel i pH værdierne og heller ikke i VFA-koncentration og sammensætning i tarmindeholdet hos de to hold grise.

Der kunne ikke bestemmes noget nitrat i mave-tarmindeholdet fra kontrolholdet, hvorefter der blev fundet betydelige mængder nitrat (115 ppm) i maveindeholdet hos grisene på nitratholdet. Selv i indeholdet fra den midterste og sidste trediedel af tyndtarmen hos grisene på nitratholdet blev der fundet nitrat, hvorimod der ikke fandtes nitrat i blind- eller tyktarmsindeholdet.

Der blev ikke fundet nitrit på noget sted i mave-tarmkanalen hos grisene fra kontrolholdet, hvorimod der blev fundet små mængder nitrit i maven og de første to afsnit af tyndtar-

Tabel 2. Fysisk/kemiske forhold i forskellige tarmafsnit hos grise tildelt hhv. nitratfrit og nitratholdigt (2000 ppm) drikkevand

	Tørstof %		pH		NO ₃ ⁻ ppm		NO ₂ ⁻ ppm		NH ₄ ⁺ mmol/kg		VFA mmol/kg		Mælkesyre mmol/kg		
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	
2000 ppm NO ₃ ⁻															
Mave 1	28,3 ^a	29,7 ^b	4,7	4,7	<0,5 ^a	115 ^b	<0,5 ^a	15 ^b	4,4 ^a	10,0 ^b	14	11	20 ^a	30 ^b	
Mave 2	27,1	27,0	3,8	3,5	-	-	<0,5	<0,5	4,8	5,6	-	-	-	-	
Tyndtarm 1	9,4 ^a	12,0 ^b	6,2	6,1	-	-	<0,5 ^a	6 ^a	1,6	4,4	5	-	5	-	
Tyndtarm 2	13,1	12,0	6,4	6,5	<0,5	6	<0,5 ^a	9 ^b	8,0	5,2	4	4	8	11	
Tyndtarm 3	14,6 ^a	11,2 ^b	6,6	6,7	<0,5	5	<0,5	<0,5	6,8	4,0	10	5	22	19	
Blindtarm	12,9	12,1	5,8	5,7	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	10,0	6,4	131	129	0	0	
Tyktarm 1	15,0 ^a	12,5 ^b	5,9	5,9	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	10,8	10,8	129	131	0	0	

Resultater med forskelligt bogstav ved samme egenskab i samme linie er signifikant ($p \leq 0,05$) forskellige.

men hos de grise, der fik nitratholdigt drikkevand.

Der blev fundet et signifikant højere indhold af både ammoniak og mælkesyre i maven og for ammoniak også i de to første afsnit af tyndtarmen hos grisene, der havde fået nitrat-holdigt drikkevand. I de øvrige tarmafsnit var der ikke nogen statistisk sikre forskelle i indhold hos de to hold.

Den mikrobielle aktivitet, – målt som mængde af ATP (adenosin-5-trifosfat) pr. gram tarmindehold, i de forskellige tarmafsnit hos de to hold grise, var signifikant højere i den første halvdel af maven hos de behandlede dyr sammenlignet med kontrolholdet. Derimod var der ingen forskel i aktiviteten mellem de to hold dyr i de følgende tarmafsnit. Aktiviteten var lav i den sidste del af maven og den første del af tyndtarmen, men højere i de følgende afsnit af tyndtarmen. Hos begge hold blev den højeste mikrobielle aktivitet pr. gram tarmindehold fundet i blindtarmen. Derefter blev der målt et jævnt fald ned gennem tyktarmen.

Virkningen af nitratholdigt drikkevand på fordelingen af forskellige populationer af bakterier og gærsvampe i mave-tarmsystemet

hos grisene fremgår af tabel 3. Resultaterne viser, at mængden af totale anaerobe bakterier og lactobaciller steg signifikant i maven hos de grise, der fik tildelt nitratholdigt drikkevand. Derimod skete der en markant nedgang i antallet af coliforme bakterier i hele mave-tarmsystemet og et fald i antallet af gærsvampe i de første tarmafsnit, når grisene fik nitratholdigt drikkevand.

Diskussion

Der er god overensstemmelse mellem produktionsresultaterne opnået i denne undersøgelse og vore tidligere publicerede resultater (Meddelse nr. 750 fra Statens Husdyrbrugsforsøg). I begge forsøg kunne grisene tåle store mængder nitrat i drikkevandet. At nitrat, i nærværende forsøg endda havde en positiv virkning på produktionsresultaterne, skal ikke overfortolkes. Dels var der i nærværende projekt tale om en ret kort forsøgsperiode (3 uger), dels havde grisene ikke fri adgang til drikkevandet, men fik det tildelt opblandet i foderet, og endelig var der tale om ret store grise med en sund og stabil tarmflora.

Tabel 3. Fordelingen af bakteriepopulationer og gær i forskellige tarmafsnit hos grise tildelt hhv. nitratfrit – og nitratholdigt (2000 ppm) drikkevand

	Total anaerobe mill/g		Lactobaciller mill/g		Coliforme mill/g		Gær mill/g	
	-	+	-	+	-	+	-	+
2000 ppm NO ₃ ⁻								
Mave 1	970 ^a	1500 ^b	620 ^a	1300 ^b	0,07 ^a	<0,01 ^b	0,013 ^a	<0,011 ^b
Tyndtarm 1	160	50	100	90	1,7 ^a	<0,02 ^b	0,030 ^a	<0,009 ^b
Tyndtarm 2	480	620	430	650	1,5 ^a	<0,3 ^b	0,038 ^a	<0,010 ^b
Tyndtarm 3	1100	1100	890	1100	9,6 ^a	<1,2 ^b	0,195 ^a	<0,021 ^b
Blindtarm	1300	220	1100	1000	1,8 ^a	0,9 ^b	0,011 ^a	<0,009 ^b
Tyktarm 1	4000	3300	2100	1100	3,0 ^a	1,1 ^b	0,013	<0,016
Tyktarm 4	9100	7600	4600	2200	9,0 ^a	1,4 ^b	0,016	<0,013

Resultater i samme population i samme linie med forskelligt bogstav er signifikant ($p \leq 0,05$) forskellige.

Forsøgene viser imidlertid klart, at grise med en sund og stabil tarmflora kan tåle store mængder nitrat i drikkevandet, og at tildeling af nitratholdigt drikkevand har en vis effekt på sammensætningen og aktiviteten af den mikrobielle population i grisenes mave-tarmkanal. Forsøgene underbygger således vor tidligere fremførte hypotese om, at grisene kan tåle store mængder nitrat som følge af, at nitrat omsættes til ammoniak af mavetarmkanalens mikroflora uden, at der dannes nitrit som mellemprodukt.

Der blev således hos grisene fra forsøgsholdet kun målt nævneværdige mængder nitrat i maven. Dette sammenholdt med den stigning i mængden af ammoniak, der blev iagttaget i maven og de første afsnit af tyndtarmen hos disse grise, antyder stærkt, at det tildelte nitrat omsættes til ammoniak allerede i maven.

Hos grisene, der fik tildelt det nitratholdige drikkevand, blev der iagttaget en øget mikrobiel aktivitet i maven og de første afsnit af tyndtarmen, en stigning i populationen af lactobaciller i maven, en øget mælkesyrekoncentration i maven og de første afsnit af tyndtarmen og et fald i populationen af coliforme bakterier i hele tarmsystemet. En mulig forklaring til dette kan være, at nitrat har stimuleret væksten af lactobacillerne i maven, og at det øgede antal lactobaciller så har hæmmet væksten af de coliforme bakterier.

Det skal her bemærkes, at lactobaciller i flere udenlandske undersøgelser er vist at reducere nitrat til ammoniak, uden at der under omsætningen ophobes nitrit. I modsætning hertil er de coliforme bakterier kendt for først at omsætte nitrat til nitrit, før nitrit reduceres videre til ammoniak. Som tidligere nævnt er det nitrit som sådant og ikke nitrat, der er ska-

deligt for dyr og mennesker, hvorfor en ophobning af nitrit ville være uheldig.

Det bør understreges, at der hos de grise, der blev tildelt nitratholdigt drikkevand, blev fundet små mængder af nitrit i såvel maven, som i de første afsnit af tyndtarmen. Der kan således ikke ses bort fra, at der har fundet en dannelse af kræftfremkaldende nitros-aminer sted, da nitrit ved lavt pH og under anaerobe forhold (netop de forhold, der findes i maven) kan reagere med aminer og danne nitros-aminer. Som følge af den relativt korte produktionstid for slagtesvin vil dannelse af små mængder nitros-aminer imidlertid næppe påvirke produktionsresultaterne. Derimod bør en eventuel dannelse af nitros-aminer tages i betragtning, hvis man ud fra nærværende forsøg ønsker at drage sammenligninger til andre husdyr eller mennesker, hvor der kan være tale om en langt mere vedvarende disponering for nitratholdigt drikkevand, end tilfældet er for slagtesvin.

Sluttelig bør det understreges, at der i nærværende undersøgelse blev anvendt foder uden tilsætning af vækstfremmere (antibiotika). De fleste antibiotika, der anvendes som vækstfremmere er overvejende effektive mod gram-positive mikroorganismer (lactobaciller og enterokokker). Altså netop de bakterier, nærværende undersøgelse tyder på er ansvarlige for, at nitrat omsættes til ammoniak uden intermediær ophobning af nitrit. Der kan således ikke ses bort fra, at nitratholdigt drikkevand til grise vil være skadeligt, hvis det gives i forbindelse med foder tilsat vækstfremmere eller i forbindelse med anden antibiotikabehandling. Ligeledes kan nitrat også meget let tænkes, at være giftigt for grise med unormal tarmflora f.eks. diarréplagede grise.