

**MURSKATUN RYPSINSIEMENEN VAIKUTUS LYPSYLEHMIEN
METAANINTUOTANTOON, MAITOTUOTOKSEEN JA MAIDON
RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN**

Milja Korjus
Maisterintutkielma
Helsingin yliopisto
Maataloustieteiden osasto
Kotieläinten ravitsemustiede
Kevät 2020

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution — Department Maataloustieteiden osasto	
Tekijä — Författare — Author Milja Korjus			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Murskatun rypsin siemenen vaikutus lypsylehmien metaanintuotantoon, maitotuotokseen ja maidon rasvahappokoostumukseen			
Oppiaine — Läroämne — Subject Kotieläinten ravitsemustiede			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterintutkielma		Aika — Datum — Month and year huhtikuu 2020	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 45 s.
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Nautakarjatalous on monesti nostettu esille ilmastonmuutoskeskustelussa metaanipäästöjen takia. Metaani on voimakkaasti ilmastoa lämmittävä kasvihuonekaasu, jonka muodostumiseen pötsissä voidaan kuitenkin vaikuttaa ruokinnallisilla keinoilla. Yksi keino on lisätä nautojen ruokintaan lipidejä. Tässä tutkimuksessa oli tavoitteena vähentää lypsylehmien metaanintuotantoa lisäämällä niiden ruokintaan murskattua rypsin siementä. Samalla tutkittiin muutoksia maidon rasvahappokoostumuksessa, tavoitteena ihmisravitsemuksen kannalta suotuisa suunta.</p> <p>Ruokintakoe toteutettiin Helsingin yliopiston Viikin opetus- ja tutkimustilan navetassa. Kokeessa olivat mukana kaikki karjan lypsissä olevat ayrshirelehmät, noin 50-60 eläintä. Metaanin mittaus röyhtäilyistä ja uloshengityksestä lehmän ollessa lypsyrobotilla mahdollisesti tutkimuksen teon maatilamittakaavassa. Koeruokintoina oli kaksi erilaista seosrehua, toinen oli kontrollirehu ja toinen sisälsi murskattua rypsin siementä (ruokinnan lipidilisen suuruus 50 g/kg ka). Karkearehuna oli ensimmäisen sadon nurmisäilörehu, ja sen osuus seosrehun kuiva-aineesta oli 60 %. Kontrolliruokinnassa väkirehu koostui pääosin ohrasta ja rypsirouheesta. Murskattua rypsin siementä sisältävässä ruokinnassa ohran tärkkelyksestä peräisin olevaa energiaa korvattiin rypsilipidien energialla. Lisäksi väkirehuseoksessa kaura korvasi ohran. Eläimet saivat lypsyrobotilta täydennysrehua 3, 4 tai 5 kg/pv maitotuotostason mukaan. Tutkimus järjestettiin switch-back -kokeena, jolloin karja sai ensimmäisellä jaksolla kontrollirehua, sen jälkeen toisella jaksolla murskattua rypsin siementä sisältävää rehua ja lopuksi eläimet palasivat kolmannen jakson ajaksi kontrolliruokinnalle.</p> <p>Murskattu rypsin siemen vähensi lehmäkohtaista (g/pv) metaanintuotosta pötsissä 18 % kontrolliruokintaan verrattuna. Kuiva-aineen syönti väheni 0,9 kg, mutta EKM-tuotoksessa ei havaittu muutosta. Maitorasvassa tyydyttyneiden rasvahappojen osuus väheni 16 %. Palmiitiinihapon 16:0 osuus väheni 34 % ja merkittävässä määrin se korvaantui steariinihapon 18:0 ja öljyhapon <i>cis</i>-9 18:1. Kertynyttä rasvahappojen osuus lisääntyi 48 %.</p> <p>Tutkimuksen perusteella murskattu rypsin siemen vähentää metaanintuotantoa ilman negatiivista vaikutusta maitotuotokseen ja maidon peruskoostumukseen. Lisäksi se muuttaa maitorasvaa pehmeämpään ja mahdollisesti ihmisravitsemuksellisesti suotuisaan suuntaan.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords lypsylehmä, metaani, ympäristökuormitus, maidon rasvahappokoostumus			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Maataloustieteiden osasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Työtä ohjasivat tutkijatohtori Anni Halmemies-Beauchet-Filleau ja yliopistonlehtori Seija Jaakkola			

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos — Institution — Department Department of Agricultural Sciences	
Tekijä — Författare — Author Milja Korjus			
Työn nimi — Arbetets titel — Title The effect of crushed rapeseed on methane production, milk production and milk fatty acid composition in lactating dairy cow			
Oppiaine — Läroämne — Subject Animal nutrition			
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis		Aika — Datum — Month and year April 2020	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 45 p.
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>The livestock sector has been frequently brought up in climate change conversation because of its methane emissions. Methane is a greenhouse gas that strongly warms the climate. However, its production in the rumen can be modified by feeding ingredients. One way is to include lipid supplements in the feeding of dairy cow. The objective of this research was to decrease the methane production of dairy cows by adding crushed rapeseed in the feeding. Changes in milk fatty acid composition were examined at the same time.</p> <p>The experiment was carried out at the University of Helsinki, Viikki research farm. The whole Ayrshire herd in milk was part of the experiment, approximately 50-60 animals. Ruminant methane production was measured at milking robot during milkings that allowed experiment in a farm scale. Two different total mixed ratios (TMR) were fed; one was the control and the other included crushed rapeseeds (lipid supplement 50 g/kg DM). Grass silage was 1st cut and its portion in the TMR was 60 %. In the control feed the concentrate mostly consisted of barley and rapeseed meal. In the feeding that included crushed rapeseed energy from barley's starch was replaced with energy from rapeseed lipids. Furthermore, in the concentrate barley was replaced by oat. The animals received standard concentrate from the milking robot 3, 4 or 5 kg/d according to the milk production level. The study was arranged as a switch back -experiment, meaning that the cattle received control feed on the first period, and after that feed included crushed rapeseed on the second period. Lastly the animals returned back to control feed for the third period.</p> <p>Crushed rapeseed decreased ruminal methane production per cow (g/d) by 18 % compared to the control diet. The dry matter intake decreased by 0,9 kg but no change was observed in ECM-production. The portion of saturated fatty acids in milk fat was decreased by 16 %. The amount of palmitic acid decreased by 34 % and it was mostly replaced by stearic acid and oleic acid. The portion of monounsaturated fatty acids in milk fat was increased by 48 %.</p> <p>According to this research crushed rapeseed reduces methane production without any negative effects on milk production and concentrations of fat and protein in milk. In addition, it decreases saturated fatty acid portion of milk fat.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords dairy cow, methane, climate change, milk fatty acid composition			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Department of Agricultural Sciences			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Supervisors Anni Halmemies-Beauchet-Filleau and Seija Jaakkola			

SISÄLLYS

LYHENTEET JA SYMBOLIT.....	5
1 JOHDANTO.....	6
2 RYPSI LYPSYLEHMIEN RAVITSEMUKSESSA.....	7
3 METAANIPÄÄSTÖJEN VÄHENTÄMINEN	7
3.1 Metaanipäästöjen määrä.....	7
3.2 Lipidit metaanintuotannon vähentäjinä.....	8
4 LIPIDIEN VAIKUTUS REHUIEN SYÖNTIIN JA MAIDONTUOTANTOON	9
4.1 Kuiva-aineen syönti.....	9
4.2 Maitotuotos ja maidon peruskoostumus.....	10
4.3 Maidon rasvahappokoostumus.....	12
5 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET	13
6 AINEISTO JA MENETELMÄT.....	13
6.1 Eläimet ja koejärjestelyt.....	13
6.2 Rehut ja ruokinta	14
6.3 Mittaukset.....	16
6.4 Näytteiden keruu ja analysointi.....	16
6.5 Tulosten laskenta ja tilastollinen analyysi	18
7 TULOKSET.....	20
7.1 Rehuien kemiallinen koostumus.....	20
7.2 Syönti ja ravintoaineiden saanti.....	21
7.3 Metaani ja muut fermentaatiokaasut	24
7.4 Maitotuotos ja maidon peruskoostumus.....	25
7.5 Maidon rasvahappokoostumus.....	25
8 TULOSTEN TARKASTELU	27
8.1 Rehuien kemiallinen koostumus ja rehuarvot	27
8.2 Syönti ja ravintoaineiden saanti.....	28
8.3 Metaani ja muut fermentaatiokaasut	30
8.4 Maitotuotos ja maidon peruskoostumus.....	32
8.5 Maidon rasvahappokoostumus.....	33
9 JOHTOPÄÄTÖKSET	34
10 KIITOKSET.....	35
LÄHTEET	36

LYHENTEET JA SYMBOLIT

<i>cis-9,trans-11</i> CLA	Rumeenihappo
<i>cis-9</i> 18:1	Öljyhappo
<i>cis-13</i> 22:1	Erukahappo
D-arvo	Sulava orgaaninen aine, g/kg ka
EKM	Energiakorjattu maito
Lipidi	Rasva-aine
MUFA	Monounsaturated fatty acids, kertatyydyttymättömät rasvahapot
NDF	Neutraalidetergenttikuitu
OIV	Ohutsuolesta imeytyvät aminohapot
PUFA	Polyunsaturated fatty acids, monityydyttymättömät rasvahapot
PVT	Pötsin valkuaistase
SFA	Saturated fatty acids, tyydyttyneet rasvahapot
<i>trans-11</i> 18:1	Vakseenihappo
VFA	Volatile fatty acids, haihtuvat rasvahapot
16:0	Palmitiinihappo
18:0	Steariinihappo
18:2n-6	Linolihappo
18:3n-3	Alfalinoleenihappo

1 JOHDANTO

Nautojen aiheuttamista metaanipäästöistä ja ilmastokuormituksesta on käyty vilkasta keskusteltua. Nautoihin ja muihin märehijöihin perustuvissa tuotantomuodoissa kasvihuonekaasupäästöt tuotekiloa kohden ovat suuremmat kuin yksimahaispuolella, mikä johtuu siitä, että märehijät kykenevät pötsin avulla sulattamaan kuitua. Tämän kyvyn ansiosta ne hyödyntävät ihmisille kelpaamatonta ravintoa kuten nurmisäilörehua ja teollisuuden sivuvirtoja. Lisäksi märehijät mahdollistavat maailmanlaajuisesti viljelemisen monilla alueilla, joilla ruokaa ei muuten pystyisi tuottamaan (Wallace ym. 2019).

Nautojen kasvihuonekaasupäästöjä voidaan vähentää erilaisin keinoin. Ruokinnallisista menetelmistä yksi paljon potentiaalia omaava keino teollistuneissa maissa on lisätä ruokintaan lipidejä. Toisin kuin monet muut lisäaineet, kasviöljyt ovat luonnollinen rehujen lisäaine. Lipidilisiä ruokinnassa on kuitenkin monesti vähentänyt kuiva-aineen syöntiä ja maitotuotosta, ja lisäksi kasviöljyt ovat kalliita. Martinin ym. (2010) mukaan tätä halvempi ja helpompi keino on käyttää öljykasvien siemeniä.

Rypsi (*Brassica rapa* subsp. *oleifera*) on hyvin ilmastoomme sopeutunut öljykasvi. Sisällytettäessä lypsylehmien ruokintaan murskattua rypsinsiementä mukana on myös lipidejä suojaavaa siemenkuorta, joka hillitsee turhan voimakkaita ja äkillisiä muutoksia pötsimikrobien elinympäristössä. Nyt tehdyssä tutkimuksessa haluttiin selvittää, voidaanko ilman tuotostappioita vähentää lypsylehmien metaanintuotantoa ja samalla muokata maitorasvaa pehmeämpään suuntaan. Tulosten käyttökelpoisuuden edistämiseksi tutkimus toteutettiin maatilamittakaavassa.

2 RYPSI LYPSYLEHMIEN RAVITSEMUKSESSA

Rapsi (*Brassica napus* subsp. *oleifera*) on tärkeä öljykasvi eri puolilla maailmaa ja erityisesti pohjoisilla leveysasteilla (Murphy ym. 1987). Siemenistä puristettava öljy käytetään elintarviketeollisuudessa, ja sivuvirtoina syntyvät puriste ja rouhe hyödynnetään kotieläinten rehustuksessa. Rapsin haitallisen erukahapon pitoisuus on saatu jalostuksen keinoin pieneksi (Sebedio ja Ackman 1979). Canola on Kanadassa kehitetty muoto, jonka erukahapon ja glukosinolaattien pitoisuudet ovat säädettyjen raja-arvojen alapuolella (Stefansson ja Kondra 1975). Rypsiä viljellään käytännössä vain Suomessa (Kuoppala 2017).

Rypsi on nauriin alalaji ja rapsi puolestaan lantun (Reiner ym. 1995). Rypsin ja rapsin välillä ei tehdä eroa Suomen rehuarvojärjestelmässä johtuen niiden rehuarvojen ja rehuikäytön samankaltaisuudesta (Kuoppala 2017). Tässä tutkielmassa käytetään selkeyden vuoksi nimitystä rypsi riippumatta siitä, onko kyseessä rypsi, rapsi tai canola.

Suomessa lypsylehmien valkuaistäydennys perustuu pääasiallisesti rypsirouheeseen (Rinne ym. 2017). Histidiini on heinäkasvisäilörehuun ja viljaan perustuvassa ruokinnassa ensimmäinen lypsylehmän tuotosta rajoittava aminohappo (Vanhatalo ym. 1999). Rypsi Valkuainen sisältää runsaasti histidiiniä (Shingoethe 1996) ja sopii siksi hyvin tällaisen pohjoisilla leveysasteilla yleisen ruokinnan valkuaistäydennykseksi. Rypsi Valkuaisen on osoitettu antavan suuremman vasteen maidontuotannossa verrattuna soijaan, kun ruokinta perustuu heinäkasvisäilörehuun (Huhtanen ym. 2011).

3 METAANIPÄÄSTÖJEN VÄHENTÄMINEN

3.1 Metaanipäästöjen määrä

Metaani (CH₄) on voimakkaasti ilmastoa lämmittävä kaasu, mistä kertoo sen GWP-kerroin (Global Warming Potential). Kerroin kuvaa kasvihuonekaasun lämmitysvaikutuksen suhteessa hiilidioksidiin (CO₂) ja se asetetaan valitulle ajanjaksolle, useimmiten 20, 100 ja 500 vuodelle (IPCC 2013). Etenkin 100 vuoden arvoa on käytetty, ja IPCC:n viidennessä arviointiraportissa (2013) se on metaanille 28. Suomen kasvihuonekaasupäästöjen

laskennassa Tilastokeskus käyttää IPCC:n neljännen arviointiraportin (2007) mukaista GWP-kerrointa 25 (Tilastokeskus 2019). Metaanin viipymäaika ilmakehässä IPCC:n (2013) mukaan on 12,4 vuotta, mikä on lyhyempi kuin muiden pääkasvihuonekaasujen.

Globaalisti maataloussektorin osuus kasvihuonekaasupäästöistä on 10,3 % (FAOSTAT 2010), ja sektorin sisällä kasvihuonekaasupäästöistä 39 % on peräisin kotieläinten ruoansulatuksesta (FAOSTAT 2017). Suomen kohdalla ollaan samassa suuruusluokassa, sillä 11 % kokonaispäästöistä on peräisin maataloudesta (Tilastokeskus 2019). Tilastot ovat vuodelta 2018 ja silloin kotieläinten ruoansulatus kattoi maataloussektorin kasvihuonekaasupäästöistä 32 %. Kokonaispäästöistä kotieläinten ruoansulatuksen osuus on Suomessa siten alle 4 %. Siitä 91 % oli peräisin nautakarjasta vuonna 2017.

3.2 Lipidit metaanintuotannon vähentäjinä

Märehtijöiden ruoansulatuksessa muodostuvan metaanin taustalla ovat pötsin metanogeeniset arkeonit (ent. arkit *Archaea*) (McDonald ym. 2011). Orgaanisen aineen sulaessa muodostuu vetyä (H_2), jota metanogeeniset arkeonit käyttävät energianlähteenään ja josta ne muodostavat yhdessä hiilidioksidin kanssa metaania ja vettä (H_2O). Metaanin poisto elimistöstä tapahtuu pääosin ruokatorven kautta röyhtäisyinä, mutta osa siitä imeytyy pötsin seinämän läpi ja poistetaan keuhkojen välityksellä uloshengityksessä (Van Soest 1994). Peräsuolen kautta poistuu paksusuolen mikrobitoiminnasta peräisin olevaa metaania, mutta sen osuus kokonaismetaanituotoksesta on vain noin 3 % (Muñoz ym. 2012).

Haihtuvien rasvahappojen (volatile fatty acids, VFA) keskinäisillä suhteilla on vaikutusta pötsissä syntyvän vedyn määrään ja sitä kautta metaanin muodostumiseen. Van Soestin (1994) mukaan voihiapon synteesissä vapautuu neljä ja etikkahapon synteesissä kahdeksan vetyatomia. Propionihapon synteesi puolestaan sitoo kaksi vetyatomia, mikä tekee tavoiteltavaksi sen osuuden lisäämisen VFA:sta. Ruokinnan koostumusta muuttamalla voidaan muuttaa VFA:n keskinäisiä suhteita, esimerkiksi tärkkelyspitoisia rehuja käyttämällä lisätään propionihapon osuutta ja kuitupitoisien rehujen osuutta kasvattamalla lisätään etikkahapon osuutta pötsin VFA:sta (McDonald ym. 2011).

Etikkahapon synteesissä muodostuvan vedyn määrän takia kuitupitoiset rehut lisäävät metaanintuotantoa pötsissä. Niinpä ruokinnan kuitupitoisuuden tai kuidun sulatuksen vähentämisen kautta on mahdollista vähentää metaanintuotantoa. Rypsin lipidejä sisältävällä rehulla on suurena määränä kuidun sulatusta vähentävä vaikutus, sillä Martinin ym. (2010) mukaan osa sen sisältämistä tyydyttymättömistä rasvahapoista on myrkyllisiä selulolyyttisille bakteereille, jotka tuottavat kuitua hajottavia entsyymejä. Toinen lipidien vaikutusmekanismi liittyy niiden suureen energiapitoisuuteen. Lisättäessä lipidejä ruokintaan hiilihydraattien osuus energia-aineenvaihdunnassa pienenee (Palmquist ja Jenkins 1980). Tämä vähentää suoraan pötsifermentaatiota (Brask ym. 2013), mikä vähentää vedyn muodostusta ja sen poistamisen tarvetta pötsistä metaanina. Lisäksi vapaat, tyydyttymättömät rasvahapot pyritään pötsin biohydrogenaatioissa muuttamaan tyydyttyneiksi, jolloin kaksoissidokset aukeavat, ja niihin liitetään vetyä. Czerkawskin ja Clapertonin (1984) mukaan biohydrogenaatio on omalta osaltaan vetynielu, mutta merkitys jää vähäiseksi kokonaisuuden kannalta.

4 LIPIDIEN VAIKUTUS REHUJEN SYÖNTIIN JA MAIDONTUOTANTOON

4.1 Kuiva-aineen syönti

Tehokkaan pötsifermentaation kannalta olisi hyvä, jos lipidien pitoisuus ruokinnassa olisi alle 100 g/kg, sillä muuten pötsimikrobien aktiivisuudessa tapahtuu muutoksia, kuidun sulatus heikkenee ja kuiva-aineen syönti vähenee (McDonald ym. 2011). Tämä 100 g/kg on ilmaistu tuorepainokiloa kohti, joten ruokinnan kuiva-ainepitoisuudella on merkitystä, mikäli luku halutaan esittää kuiva-ainekiloa kohti. Martinin ym. (2008) tutkimuksessa neutraalidetergenttikuidun (NDF) sulavuus väheni, kun ruokintaan sisällytettiin kasviöljyä (lipidilisäys 50 g/kg ka). Huhtasen ym. (2009) meta-analyysissä väkirehun lipidit vähensivät suoraviivaisesti NDF:n sulavuutta. Murphyn ym. (1987) tutkimuksessa NDF:n sulavuus pötsissä väheni, kun ruokintaan sisällytettiin murskattua rypsin siementä (lipidien pitoisuus syödystä kuiva-aineesta 47 ja 71 g/kg).

Palmqvistin ja Jenkinsin (1980) mukaan aiemmassa kirjallisuudessa on maininta lipidien ehkäisevän fyysisesti mikrobien kiinnittymistä kuitupartikkelin pintaan, mutta he toteavat

suurimman osan aiemmin tehdyistä tutkimuksista tukevan eri näkemystä. Lipidien kuidun sulavuutta vähentävää vaikutusta on pidetty seurauksena mikrobiaktiivisuuden vähentymisestä ja sitä kautta mikrobipopulaatioiden osuuksien muutoksista toisiinsa nähden. Saman asian mikrobipopulaatioiden keskinäisistä suhteista toteavat Van Soest (1994) ja Martin ym. (2010).

Kaikissa tutkimuksissa rypsilipidit eivät ole vähentäneet NDF:n sulavuutta. Rypsiöljyn lisääminen ruokintaan ei vaikuttanut Doreaun ym. (1991) kokeessa orgaanisen aineen sulavuuteen pötsissä. Braskin ym. (2013) tutkimuksessa syötettiin rypsiä puristeena, murskattuina siemeninä ja öljynä eikä eri olomuodoilla ollut vaikutusta NDF:n pötsisulavuuteen verrattuna kontrolliin.

Rypsilipidit eivät ole myöskään aina vähentäneet kuiva-aineen syöntiä (Beauchemin ym. 2009, Givens ym. 2009, Brask ym. 2013). Allenin (2000) mukaan ei ole selvää, miksi lipidilisä joskus vähentää kuiva-aineen syöntiä. Hänen mukaansa siihen liittyyneen lipidien vaikutus pötsifermentaatioon, suolen liikkeisiin, suolen hormoneihin ja rasvahappojen hapettumiseen maksassa. Myös lipidien lähteellä ja etenkin annostasolla on hänen mukaansa merkitystä. Givens ym. (2009) havaitsivat tutkimuksessaan rypsiöljyn vähentävän kuiva-aineen syöntiä, mutta syötettäessä rypsiä kokonaisina tai murskattuina siemeninä kuiva-aineen syönti ei vähentynyt verrattuna kontrolliin. Steelen ym. (1971, ref. Brask ym. 2013) mukaan siementen öljy on varastoituna solunsisäisesti ja lipidien vapautuminen on riippuvainen soluseinän hajoamisesta. Tällöin lipidit vapautuvat hitaammin verrattuna siihen, että öljy olisi ruokinnassa sellaisenaan. Sekä Beauchemin ym. (2009) että Braskin ym. (2013) tutkimuksessa metaanintuotanto väheni, vaikka kuiva-aineen syönti ei vähentynyt.

4.2 Maitotuotos ja maidon peruskoostumus

Kuiva-aineen syönnin vähenemistä on tarkoituksenmukaista välttää, sillä syönnin väheneminen vaikuttaa negatiivisesti maitotuotokseen ja maidon pitoisuuksiin (McDonald ym. 2011). Lisättäessä rypsilipidejä ruokintaan maitotuotos on joissain tutkimuksissa vähentynyt (Ryhänen ym. 2005, Hristov ym. 2011). Kustannustehokkaat, tuottavuutta parantavat tai ainakin tuotantotappioita aiheuttamattomat strategiat metaanintuotannon vähentämiseksi omaksutaan todennäköisesti helpoimmin tuottajien toimesta (Boadi ym.

2004). Kasviöljylisien metaanintuotantoa vähentävää vaikutusta arvioitaessa olisi hyvä huomioida tulokset, jotka on ilmoitettu tuotettua maitokiloa tai sulatettua rehukiloa kohti (Brask ym. 2013). Tällöin negatiivinen vaikutus sulavuuteen tai maitotuotokseen on huomioitu.

Ruokintaan lisätyt lipidit voivat suurena määränä vähentää maidon valkuaispitoisuutta ja -tuotosta (Kelly ym. 1998). Tällöin lipideillä on rajoittava vaikutus pötsimikrobien aktiivisuuteen ja sitä kautta mikrobivalkuaisen synteesiin (McDonald ym. 2011). On olemassa tutkimuksia, joissa rypsilipidien lisääminen ruokintaan ei kuitenkaan ole merkitsevästi vaikuttanut maidon valkuaispitoisuuteen tai valkuaisuotokseen (Murphy ym. 1987, Givens ym. 2009, Brask ym. 2013). Tutkimuksessa, jossa valkuaisuotos tilastollisesti merkitsevästi väheni, myös maitotuotos oli vähentynyt (Hristov ym. 2011). Valkuaisuotoksen vähenemisen todettiin olevan maitotuotoksen vähenemisen seurausta, sillä rypsilipidit eivät vaikuttaneet maidon valkuaispitoisuuteen kyseisessä tutkimuksessa. Palmquistin ja Jenkinsin (1980) mukaan maidon vähentynyt valkuaispitoisuus voi olla seurausta nesteentuotannon lisääntymisen aiheuttamasta laimentumisesta. Emery (1978) pohti syytä maidon valkuaispitoisuuden vähenemiselle ja totesi, että lisäenergia tulisi kenties antaa hiilihydraatteina tai jossain muussa muodossa, jotta se lisäisi maidon valkuaispitoisuutta.

Ruokintaan lisätyt lipidit lisäävät pötsin biohydrogenaatiota, jossa syntyy myös epätoivottuja reaktiotuotteita. Shingfieldin ym. (2010) mukaan yksi tällainen reaktiotuote on *trans*-10,*cis*-12 CLA, joka maitorauhasessa inhiboi siellä tapahtuvaa *de novo* -synteesiä ja sitä kautta vähentää maidon rasvapitoisuutta. Yleisesti ottaen väkirehun osuuden lisäyksellä on maidon rasvapitoisuutta vähentävä vaikutus, ja ruokinnan väkirehun osuuden lisääntyessä yli 60 prosentin negatiivinen vaikutus maidon rasvapitoisuuteen voimistuu (Shingfield ja Griinari 2007). Väkirehumäärän lisääminen aiheuttaa voimakkaamman negatiivisen vasteen maidon rasvapitoisuuteen, mikäli ruokinnassa on lisäksi monityydyttymättömiä rasvahappoja runsaasti sisältäviä kasviöljyjä tai lipidejä (Shingfield ja Griinari 2007).

4.3 Maidon rasvahappokoostumus

Märehtijöiden maidon rasvaan on vaikeampi vaikuttaa ruokinnan kautta kuin yksimahaisien, sillä tyydyttymättömät rasvahapot pyritään pötsin biohydrogenaatiossa muuttamaan tyydyttyneiksi (Van Soest 1994). Lisättäessä rypsilipidejä ruokintaan murskatun rypsin siemenen muodossa myös siementen kuoriosaa on mukana. Chilliardin ja Ferlayn (2004) mukaan kuoren antaman suojan ansiosta rasvahapot ovat vähemmän alttiita pötsimetabolialle, minkä vuoksi maitorasvaan toivotaan päätyvän enemmän tyydyttymättömiä rasvahappoja. Öljykasvin siemenistä peräisin olevien rasvahappojen biohydrogenaation laajuus riippunee viipymääjasta pötsissä ja siitä, onko öljy helposti saatavilla, mihin puolestaan voidaan vaikuttaa murskaamisella, ekstruusiolla ja pureskelulla (Allen 2000).

Ruokintaan lisätyillä lipideillä on potentiaalia, sillä niiden on osoitettu vähentävän tyydyttyneiden rasvahappojen määrää maitorasvassa sekä lisäävän ihmisravitsemuksen kannalta suotuisien rasvahappojen *cis*-9 18:1, 18:3n-3 ja *cis*-9,*trans*-11 CLA osuutta maitorasvassa (Chilliard ym. 2007). Lipidilisän vaikutuksen voimakkuus riippuu monesta tekijästä, kuten lipidien määrästä ruokinnassa, lipidilisän rasvahappoprofiilista ja olomuodosta sekä pohjadieetin koostumuksesta (Shingfield ym. 2013).

Karkearehuissa, viljoissa ja öljykasveissa on pääosin 18 hiiltä sisältäviä monityydyttymättömiä rasvahappoja (linolihappo 18:2n-6 ja alfa-linoleenihappo 18:3n-3) ja jotkin öljykasvien siemenet sisältävät paljon kertatyydyttymättömiä rasvahappoja (Chilliard ym. 2007). Rypsi lukeutuu näihin öljykasveihin, sillä kertatyydyttymätön *cis*-9 18:1 kattaa sen rasvahapoista 60 % (Heuzé ym. 2019). Kun ruokintaan lisätään pötsifermentaatiolta suojaamatonta ja runsaasti *cis*-9 18:1-, 18:2n-6- tai 18:3n-3-rasvahappoja sisältävää öljymäistä rasvaa tai öljykasvin siemeniä, maidon rasvahappokoostumuksessa rasvahappojen 18:0 ja *cis*-9 18:1 osuus suurenee (Chilliard ym. 2007).

Maito ja maitotuotteet ovat ihmisravitsemuksessa pääasiallinen lyhytketjuisten, tyydyttyneiden rasvahappojen (12:0 ja 14:0) lähde sekä huomattava 16:0- ja *trans*-rasvahappojen lähde (Shingfield ym. 2008). Tyydyttyneiden rasvahappojen liiallisella käytöllä on mahdollisesti negatiivisia vaikutuksia ihmisterveyteen, sillä sen on todettu olevan yhteydessä matalampaan insuliiniherkkyyteen ja sitä kautta diabeteksen kehittymiseen (Shingfield ym. 2013). Tämän lisäksi tyydyttyneistä rasvahapoista etenkin 14:0 ja 16:0 lisäävät joi-

denkin tutkimusten mukaan runsaasti nautittuina sydän- ja verisuonitautien riskiä (Shingfield ym. 2008), ja sairastumisriskin pienentämiseksi suositellaan tyydyttyneiden rasvahappojen korvaamista kerta- ja monityydyttymättömillä rasvahapoilla (Kliem ym. 2019).

Myös *trans*-rasvahappojen on arvioitu lisäävät sydän- ja verisuonitautien riskiä, ja esimerkiksi Tanskassa, Itävallassa, Unkarissa ja Latviassa rajoitetaan lainsäädännöllä *trans*-rasvojen pitoisuutta elintarvikkeissa (Kliem ym. 2019). Joidenkin arvioiden mukaan teollisten prosessien yhteydessä muodostuneet *trans*-rasvahapot omaavat tämän riskin, mutta märehitjyperäiset eivät omaa (Kuhnt ym. 2016). Jos maitotuotteet jätetään kokonaan pois ruokavaliosta, menetetään samalla niiden mahdollinen syöpää, valtimotautia, osteoporoosia sekä muita rappeumasairauksia ehkäisevä vaikutus (Shingfield ym. 2008).

5 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tämän työn tavoitteena oli tutkia murskattuja rypsiinsiemeniä lypsylehmien metaanintuotannon vähentämiskeinona. Lisäksi tarkasteltiin rypsilipidien vaikutusta maidon rasvahappokoostumukseen, tavoitteena ihmisravitsemuksen kannalta suotuisa suunta. Tutkimushypoteesit olivat:

1. Murskatun rypsiinsiemenen lipidit vähentävät metaanintuotantoa pötsissä.
2. Kohtuullinen lipidilisä ei vähennä rehun syöntiä ja maitotuotosta.
3. Rypsilipidien vaikutuksesta maitorasva pehmenee.

Työssä käsitelty ruokintakoe liittyi laajempaan tutkimusprojektiin Dairy products with reduced saturated fatty acids, jota rahoitti Euroopan innovaatio- ja teknologainstituutti (EIT).

6 AINEISTO JA MENETELMÄT

6.1 Eläimet ja koejärjestelyt

Tutkimus toteutettiin Helsingin yliopiston Viikin opetus- ja tutkimustilan navetassa 30.8.2018–12.11.2018. Ruokintakokeessa koe-eläiminä olivat kaikki karjan lypsykau-

della olevat ayrshirelehmät. Koe toteutettiin pihatossa, jossa on automaattilypsyjärjestelmä (Astronaut A3, Lely, Maassluis, Alankomaat). Eläimet söivät kahta erilaista seosrehua, joiden saatavuutta ei rajoitettu. Toinen ruokinnoista oli kontrolliruokinta ja toinen sisälsi murskattua rypsinsiementä.

Koe järjestettiin switch-back -kokeena. Karja oli ensimmäiset neljä viikkoa kontrolliruokinnalla (jakso 1). Sen jälkeen 28 vuorokauden ajan eläimille syötettiin murskattua rypsinsiementä sisältävää rehua (jakso 2). Lopuksi eläimet palasivat kolmen viikon ajaksi kontrolliruokinnalle (jakso 3). Koe-eläinten lukumäärä oli 52, 50 ja 59 ja viimeisimmästä poikimisesta oli keskimäärin kulunut 153, 141 ja 117 päivää jaksoilla 1, 2 ja 3, vastaavasti. Maitonäytteet otettiin 13 eläimeltä, jotka valittiin ennen kokeen alkua ja jotka pysyivät samoina kokeen alusta loppuun asti. Niistä neljä oli alkulypsykauden lehmiä (päivää poikimisesta 13-27 kokeen alkaessa) ja loput yhdeksän pidemmällä lypsykautta (päivää poikimisesta 153-305 kokeen alkaessa). Tällä pyrittiin pienentämään alkulaktaation kudosvarastojen mobilisoinnista aiheutuvaa haittaa maidon rasvahappokoostumuksen muutosten tulkinnassa.

Lehmien metaanintuotanto mitattiin lypsykäyntien yhteydessä. Metaanidatassa mukana olevien eläinten tuli olla mukana ruokintakokeessa kaikilla kolmella jaksolla. Lisäksi edellytyksenä oli, että jokaista näytteenottoviikkoa kohti oli vähintään kymmenen hyväksyttyä metaanimittausta per eläin. Metaanidatan lehmien lukumäärä näillä kriteerein oli 23.

6.2 Rehut ja ruokinta

Säilörehut olivat ensimmäisen sadon timotei-nurminata -säilörehuja, jotka korjattiin ke-säkuussa 2018 pyöröpaaleihin käyttäen muurahaishappopohjaista säilöntäainetta (5 l/tonni rehua, AIV 2 Plus Na, Taminco Finland Oy, Eastman Chemical Company, Oulu, Suomi). Pyöröpaalit oli korjattu kolmelta eri Viikin opetus- ja tutkimustilan peltolohkolta. Ne käytettiin siten, että joka toinen paali oli lohkolta Haltiala ja joka toinen lohkolta Laidun 8-9. Kun lohkon Laidun 8-9 paalit loppuivat, ne korvattiin Museopelto-lohkon paaleilla, ja näin jatkettiin kokeen loppuun asti.

Väkirehuseos koostui kontrollirehussa melassileikkeestä (Lantmännen Feed Oy, Turku, Suomi), rypsirouheesta (Hankkija Oy, Hyvinkää, Suomi), ohrasta ja kivennäisrehuseoksesta (Seleeni-E-Melli TMR, Lantmännen Feed Oy, Turku, Suomi). Murskattua rypsiä sisältävässä ruokinnassa ohran tärkkelyksestä peräisin olevaa energiaa korvattiin rypsilipidien energialla. Lisäksi väkirehuseoksessa kaura korvasi ohran (taulukko 1). Ohra ja kaura olivat Viikin opetus- ja tutkimustilalla tuotettuja.

Taulukko 1. Seosrehujen komponenttien osuudet (g/kg ka).

	Kontrolli	Murskattu rypsiäsiemen
Nurmisäilörehu	0,600	0,600
Rypsirouhe	0,120	0,034
Murskattu rypsiäsiemen	-	0,139
Ohra	0,189	-
Kaura	-	0,135
Melassileike	0,070	0,071
Kivennäiset	0,017	0,017
Propyleeniglykoli	0,004	0,004
Yhteensä	1,000	1,000

Rypsilipidiruokintaan lisättiin rypsirouhetta siten, että rypsiästä saatavan valkuaisen määrä eri ruokinnoissa oli yhtä suuri. Murskatun rypsiäsiemenen raaka-aine oli kotimaista, ja se oli korjattu eteläisestä Suomesta.

Rypsiäsiemenet murskattiin vasaramyllyllä (HMS 7,5 kW, Haukka-Metalli Oy, Ilmajoki, Suomi) seulakoolla 6-8 mm ja puhallettiin säilörehun sekaan rehusekoittimessa (Pellon CutMix 12 m³, Pellon Group Oy, Ylihärmä, Suomi), joka sekoitti säilörehun ja murskatut rypsiäsiemenet. Tyydyttymättömät rasvahapot ovat kemiallisesti reaktiivisia (Ryhänen ym. 2005), joten rasvan hapettumisen ehkäisemiseksi rypsiäsiementä ei murskattu etukäteen. Sekoituksen jälkeen rehuseos siirtyi mattokuljetinta pitkin kiskoilla kulkevaan seosrehuvaunuun (TMR Robot, Pellon Group Oy, Ylihärmä, Suomi), joka lisäsi joukkoon muut väkirehukomponentit ja teki seosrehun ennen jokaista ruokintaa. Seosrehu jaettiin neljä kertaa päivässä noin klo 8, 12, 18 ja 22.

Seosrehuissa karkearehun ja väkirehun välinen suhde oli 60:40 kuiva-aineesta. Seosrehun väkirehun lisäksi lehmät saivat 3, 4 tai 5 kg päivässä lypsyjen yhteydessä teollista täydennysrehua (Maituri 10 000, Lantmännen Feed Oy, Turku, Suomi). Täydennysrehun an-

nos määräytyi maitotuotostason mukaan. Päivätuotoksen ollessa alle 30 kg täydennysrehun annos oli 3 kg. Kun päiväkohtainen maitotuotos oli 30-40 kg, täydennysrehun annos oli 4 kg. Yli 40 kg päivässä lypsävät saivat täydennysrehua 5 kg. Täydennysrehun annostaso asetettiin lehmäkohtaisesti ennen kokeen alkua, ja se pysyi vakiona läpi kokeen.

6.3 Mittaukset

Lehmien päivittäin syövä rehumäärä mitattiin vaakakuppien (Insentec RIC System, Hokofarm Group BV, Marknesse, Alankomaat) avulla. Vaakakupit tyhjennettiin kerran päivässä noin klo 8.

Metaanin, hiilidioksidin ja vedyn määrät mitattiin röyhtäilyistä ja uloshengityksestä lypsyrobottiin asennetulla GreenFeed-järjestelmällä (C-Lock Inc, Rapid City, Yhdysvallat) jokaisen lypsykäynnin yhteydessä. Lypsyrobotti mittasi maitotuotoksen jokaiselta lypsykerralta ja punnitsi lehmät lypsyn yhteydessä. Eläimet kuntoluokitettiin Edmonsonin ym. (1989) menetelmän mukaisesti jokaisen koejakson alussa ja kokeen päättyessä. Luokittelun suoritti samat kolme henkilöä koko kokeen ajan.

6.4 Näytteiden keruu ja analysointi

Koejaksojen lopussa oli viikon kestävät näytteenottojaksot, jolloin otettiin näytteet päivittäin säilörehusta, täydennysrehusta, väkirehuseoksesta, murskatusta rypsin siemenestä ja seosrehusta. Rehunäytteistä analysoitiin kemiallinen koostumus (primaarinen ja sekundaarinen kuiva-aine, tuhka, NDF, raakavalkuainen, kokonaisrasva, rasvahapot, tärkkelys ja happoon liukenematon tuhka (AIA)). Säilörehusta analysoitiin lisäksi *in vitro* orgaanisen aineen sulavuus ja käymislaatu (pH, maitohappo, VFA, vesiliukoiset hiilihydraatit, ammonium-N).

Rehunäytteet ja maidon rasvahapot analysoitiin Helsingin yliopiston Kotieläintieteen laboratoriossa. Primaarinen kuiva-aine määritettiin kuivaamalla näytteitä tuulettavassa kuivauskaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa) 103°C:ssa yhden vuorokauden ajan. Analyysinäytteet valmistettiin kuivaamalla sulatettu rehunäyte tuulettavassa kuivauskaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa) ensin tunnin ajan 103°C:ssa, jonka jälkeen 50°C:ssa kahden vuorokauden ajan. Kuivatut näytteet jauhettiin

KT-sakomylyllä (Koneteollisuus Oy, Helsinki, Suomi). Jauhetusta analyysinäytteestä määritettiin sekundaarinen kuiva-aine kuivaamalla näytettä kuivauskaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa) 103°C:ssa 17 tunnin ajan. Näytteiden tuhka määritettiin analyysinäytteestä polttamalla sitä 600°C muhveliuunissa (Heraeus Thermicon T, Heraeus, Hanau, Saksa) 20–24 tunnin ajan.

NDF määritettiin analyysinäytteestä Van Soestin ym. (1991) mukaan automaattisella FiberTherm FT12 -uuttolaitteella (Gerhardt, Königswinter, Saksa). Analysoidut NDF-pitoisuudet on ilmoitettu ilman jäännöstuhkaa. Raakavalkuainen määritettiin analysoimalla typpipitoisuus Tecator-polttolaitteella (Tecator Digestion Auto ja Tecator Scubber) Kjeldahl-menetelmän (AOAC 1995) mukaisesti. Tämän jälkeen raakavalkuaispitoisuus laskettiin kertomalla luvulla 6,25. Täkkelys analysoitiin α -amylaasimenetelmällä käyttäen Megazymen K-TSTA-kittiä (Megazyme, Co. Wicklow, Irlanti). Kokonaisrasva määritettiin HCl-hydrolyysin jälkeen petroolieetteriuutolla (FOSS Soxtec 8000 uuttoyksikkö, SoxCap 2047 hydrolyysiyksikkö, FOSS Analytical, Hillerød, Tanska).

Säilörehusta puristetusta nesteestä määritettiin välittömästi näytteenoton jälkeen pH navettalaboratoriossa pH-mittarilla (S20 SevenEasy™ pH, Mettler-Toledo Ltd, Leicester, Iso-Britannia). *In vitro* orgaanisen aineen sulavuus määritettiin pepsiini-sellulaasimenetelmällä (Friedel 1990) käyttäen Nousiaisen ym. (2003) muunnelmaa. Tulokset muunnettiin *in vivo*-sulavuutta vastaavaksi käyttämällä Huhtasen ym. (2006) korjausyhtälöitä. Maitohappopitoisuus määritettiin Barkerin ja Summersonin mukaan (1941) kolorimetristä menetelmää käyttäen (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany). VFA määritettiin säilörehusta Puhakan ym. (2016) julkaisun mukaisesti nestegromatografilla (Waters Acquity UPLC, Waters, Milford, MA, Yhdysvallat) ja käytetty kolonni oli 186004097 Waters MassTrak AAA (Waters, Milford, MA, Yhdysvallat). Vesiliukoisten hiilihydraattien analysoinnissa käytettiin kolorimetristä menetelmää (Somogyi 1945, Salo 1965) ja määrittäminen tehtiin spektrofotometrillä (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Saksa). Säilörehun ammoniakityppi analysoitiin McCulloughin (1967) mukaan kolorimetrisellä menetelmällä spektrofotometriä käyttäen (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Saksa).

Lehmäkohtaiset maitonäytteet 13 eläimeltä otettiin joka kolmas päivä 1. jakson näytteenottojaksosta lähtien kokeen loppuun asti. Maitonäytteet kerättiin Lely Shuttlella (Lely,

Maassluis, Alankomaat) yhdeltä lypsykerralta klo 9 alkaen. Maidosta analysoitiin peruskoostumus (rasva-, valkuais-, laktoosi- ja ureapitoisuus sekä somaattiset solut) infrapuna-analysaattorilla (Milco Scan FT 6000, Foss, Hillerød, Tanska) Valio Oy:n Seinäjoen alue-laboratoriossa.

Säilörehusta rasvahappoanalyysi tehtiin kylmäkuivauksen (Christ, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Saksa) ja jauhamisen (KT-sakomyylly 1 mm:n seulalla) jälkeen, väkirehut jauhettiin ilman kylmäkuivausta. Näytteet säilytettiin -80°C:ssa. Lipidien uutto, esteröityjen lipidien transmetylaatio ja vapaiden rasvahappojen metylointi rasvahappojen metyyliestereiksi tehtiin Lammisen ym. (2019) mukaan, kuten myös maidon lipidien uutto ja metylointi. Rasvahappojen metyyliesterit analysoitiin vetyliekki-ionisaatiidetektorilla varustetulla kaasukromatografilla (GC2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japani). Piikit tunnistettiin kaasukromatogrammeista vertaamalla niiden retentioaikoja standardien (GLC463, Nu-Chek Prep, Elysian, MN; 10-2800-7, 10-2100-9, 10-2600-12, 21-1600-8, 21-1412-7, 21-1614-7, 21-1413-7, 21-1615-7 Larodan, Malmö, Ruotsi) retentioaikoihin.

6.5 Tulosten laskenta ja tilastollinen analyysi

Säilörehun kuiva-ainekorjaus laskettiin Huidan ym. (1986) mukaan. Säilörehun muunto-kelpoinen energia laskettiin sen sulavan orgaanisen aineen pitoisuuden (D-arvo) perusteella ($0,016 \times D$ -arvo). Rehujen orgaaninen aine saatiin vähentämällä kuiva-aineesta tuhka. Ohutsuoletta imeytyvät aminohapot (OIV) ja pötsin valkuaiastase (PVT) laskettiin rehujen kemiallisen koostumuksen ja rehutaulukoiden (Luke 2018) mukaan:

$$OIV = OIV_{mv} + OIV_{ov}$$

$$PVT = hv - mv$$

$$OIV_{mv} = ah_{mv} \times sm_{mv} \times mv$$

$$OIV_{ov} = so_{ov} \times ov$$

$$mv = 152 \times (D\text{-arvo} - ov) / 1000$$

$$hv = h_{vo} \times rv,$$

$$ov = rv - hv = (1 - h_{vo}) \times rv,$$

missä:

OIV = ohutsuolesta imeytyvät aminohapot (g/kg rehun ka)

PVT = pötsin valkuaiastase (g/kg rehun ka)

mv = mikrobivalkuaisen tuotanto (g/kg rehun ka)

hv = hajoava valkuainen (g/kg rehun ka)

ov = ohitusvalkuainen (g/kg rehun ka)

OIVmv = ohutsuolesta imeytyvä mikrobivalkuainen

OIVov = ohutsuolesta imeytyvä ohitusvalkuainen

D-arvo = rehun sulava orgaaninen aine (g/kg rehun ka)

hvo = hajoavan valkuaisen osuus

rv = rehun raakavalkuainen (g/kg rehun ka)

ahmv = aminohappojen osuus mikrobivalkuaisesta (vakion arvo 0,75)

smv = mikrobivalkuaisen sulavuus (vakion arvo 0,85)

sov = ohitusvalkuaisen sulavuus (vakion arvo 0,82)

Energiakorjattu maito laskettiin Sjaunjan ym. (1990) mukaan kaavalla:

$$\text{ekm (kg)} = \text{maitotuotos (kg)} \times (383 \times \text{rasvaprosentti} + 242 \times \text{valkuaisprosentti} + 165,4 \times \text{laktoosiprosentti} + 20,7) / 3140.$$

Tilastolliset analyysit tehtiin SAS-ohjelmiston Mixed-proseduurilla käyttäen varianssi-analyysiä. Mallissa kiinteänä vaikutuksena oli jakso ja ruokinta ja satunnaisvaikutuksena lehmä. Jaksojen vaikutus jaettiin edelleen seuraaviin ortogonaalisiin kontrasteihin: lineaarinen (Lin) ja 2. asteen vaikutus. Ruokinta oli 1. ja 3. jaksolla kontrolliruokinta ja 2. jaksolla murskattu rypsiensiemen. Jaksojen välisiä eroja pidettiin tilastollisesti merkitsevinä p-arvoilla $p \leq 0,05$. Rehujen ja maidon rasvahappokoostumusta koskeva data ei ollut normaalisti jakautunut, joten erojen testaamiseksi käytettiin käänteisluku- ja logaritmi-muunnettuja pitoisuuksia. Tuloksissa kontrollijaksojen keskiarvo vähennettiin murskatun rypsiensiemen aikaisen ruokinnan tuloksista, jolloin saatiin laskettua murskatun rypsiensiemen keskimääräinen vaste.

7 TULOKSET

7.1 Rehujen kemiallinen koostumus

Säilörehun kuiva-ainepitoisuus oli keskimäärin 411 g/kg (taulukko 2). Raakavalkuaispitoisuus oli rypsin siemenruokinnan seosväkirehussa hieman pienempi kuin kontrollissa (195 g/kg ka vs. 201 g/kg ka). Säilörehun pH oli 4,70 ja vesiliukoisten hiilihydraattien pitoisuus 165 g/kg ka. Säilörehussa valtaosa rasvahapoista oli monitydyttymättömiä rasvahappoja.

Taulukko 2. Rehujen kemiallinen koostumus, rehuarvot ja päärasvahappojen osuudet.

	Nurmi- säilörehu, 1. sato	Seosväkirehu kontrolli	Seosväkirehu, murskattu rypsin siemen	Täydennys- rehu robotilta
Kuiva-aine, g/kg	411	875	889	878
Kuiva-aineessa, g/kg				
Tuhka	73,9	93,1	83	73,7
Raakavalkuainen	136	201	195	203
Tärkkelys	2,50	328	162	298
NDF	508	219	258	203
Kokonaisrasva	24,9	25,4	170	31,3
Vesiliukoiset hiili- hydraatit	165			
Maitohappo	2,48			
VFA yhteensä	3,52			
Ammoniumtypen osuus kokonaistypestä, g/kg N	31,0			
pH	4,70			
D-arvo	696			
ME, MJ/kg ka	11,1	12,0	13,8	12,8
OIV	82,2	93,0	89,3	119
PVT	12,9	64,1	63,3	38
Rasvahappo, g/100 g rasvahappoja				
16:0	17,9	14,7	11,3	42,2
18:0	1,60	0,12	0,10	2,36
<i>cis</i> -9 18:1	3,22	34,5	40,8	23,4
18:2n-6	29,5	35,6	30,7	24,2
18:3n-3	55,0	5,72	7,92	2,91
<i>cis</i> -13 22:1	-	0,16	0,11	0,07
SFA	22,4	16,6	13,0	45,9
MUFA	6,12	42,0	48,3	46,1
PUFA	71,4	41,4	38,7	47,3

NDF = neutraalidetergenttikuitu, VFA = haihtuvat rasvahapot, D-arvo = sulavan orgaanisen aineen pitoisuus kuiva-aineesta, ME = muuntokelpoinen energia, OIV = ohutsuolesta imeytyvä valkuainen, PVT = pösin valkuaisosa, SFA = tyydyttyneet rasvahapot, MUFA = kertatydyttymättömät rasvahapot, PUFA = monitydyttymättömät rasvahapot

Rypsirehut erosivat muista rehukomponenteista suuremman raakavalkuaispitoisuutensa osalta, ja lisäksi kauran raakavalkuaispitoisuus oli suurempi kuin ohran (taulukko 3). Verrattaessa ruokintojen viljoja keskenään, kauran NDF-pitoisuus oli suurempi ja tärkkelyspitoisuus pienempi kuin ohran. Kokonaisrasvapitoisuudessa murskattu rypsin siemen erosi selvästi muista komponenteista suuremmalla pitoisuudellaan. *Cis*-9 18:1 kattoi rypsin siemenen rasvahapoista yli puolet, 52,6 %. Tämä näkyi myös rypsin siemenen kertytyttymättömien rasvahappojen osuudessa, joka oli 60 %. Kaikista rehukomponenteista rypsin siemenen lipidit sisälsivät vähiten erukahappoa *cis*-13 22:1.

Taulukko 3. Rehukomponenttien kemiallinen koostumus ja päärasvahappojen osuudet.

	Kaura	Ohra	Rypsirouhe	Rypsin siemen	Melassileike
Kuiva-aine, g/kg	874	880	880	909	880
Kuiva-aineessa, g/kg					
Tuhka	39,7	25,3	77,0	45,2	39,8
Raakavalkuainen	158	117	386	242	106
Tärkkelys	351	607	4,60	6,10	229
NDF	317	173	248	149	338
Kokonaisrasva	43,3	25,2	43,2	434	38,3
Rasvahappo, g/100 g rasvahappoja					
16:0	17,9	22,0	8,27	4,76	13,4
18:0	0,08	0,08	0,13	0,07	0,07
<i>cis</i> -9 18:1	34,0	11,8	46,1	52,6	38,2
18:2n-6	39,7	53,9	24,6	21,6	35,9
18:3n-3	2,50	6,98	6,82	12,0	6,22
<i>cis</i> -13 22:1	0,24	0,16	0,30	0,02	0,12
SFA	19,2	23,4	10,7	6,28	14,7
MUFA	38,5	15,6	57,9	60,0	43,1
PUFA	42,3	61,0	31,5	33,7	42,2

NDF = neutraalidetergenttikuitu, SFA = tyydyttyneet rasvahapot, MUFA = kertatyydyttymättömät rasvahapot, PUFA = monityydyttymättömät rasvahapot

7.2 Syönti ja ravintoaineiden saanti

Murskattu rypsin siemen vähensi kuiva-aineen syöntiä 0,9 kg verrattuna kontrolliin ($p=0,027$, toisen asteen vaikutus) (taulukko 4). Väkirehun osuus ruokinnasta oli murskattua rypsin siementä syötettäessä suurempi verrattuna kontrolliin ($p=0,002$, toisen asteen vaikutus). Orgaanisen aineen saanti väheni murskatun rypsin siemenen aikaisessa ruokinnassa käyräviivaisesti kontrolliruokintaan nähden ($p=0,045$). Murskatun rypsin siemenen vaikutuksesta raakavalkuaisen saanti muuttui käyräviivaisesti ollen pienempi toisella jaksolla kuin kontrollijaksoilla ($p=0,003$), ja näin oli havaittavissa myös OIV-saannissa

($p=0,008$). Murskattua rypsinsiementä syötettäessä NDF:n saanti oli suuntaa-antavasti ($p=0,073$) pienempi kontrolliin verrattuna. Kokonaisrasvan saannissa oli huomattava ero, murskattu rypsin siemen sai aikaan 0,98 kg suuremman saannin kuin kontrolliruokinta ($p<0,001$). Murskattua rypsin siementä annettaessa tärkkelyksen saanti oli pienempi kuin kontrolliruokinnan aikana ($p<0,001$, toisen asteen vaikutus).

Taulukko 4. Syönti ja ravintoaineiden saanti (n=13).

	Koekäsittely			Murskatun rypsin-siemenen keskimääräinen vaste ¹	SEM	Merkitsevyys	
	Kontrolli jakso1	Murskattu rypsin-siemen jakso2	Kontrolli jakso3			Lin	2. aste
Kokonaissyönti, kg ka/pv	21,9	21,2	22,2	-0,9	0,70	0,582	0,027
Säilörehun syönti, kg ka/pv	11,1	10,6	11,4	-0,7	0,36	0,468	0,009
Väkirehun osuus, %	49,3	49,9	48,9	0,8	<0,01	0,173	0,002
Orgaaninen aine, kg/pv	20,2	19,5	20,4	-0,80	0,64	0,671	0,045
Ravintoaineiden saanti päivässä							
Raakavalkuainen, kg	3,80	3,50	3,65	-0,23	0,119	0,034	0,003
NDF, kg	8,02	7,81	8,15	-0,28	0,256	0,576	0,073
Kokonaisrasva, kg	0,56	1,56	0,60	0,98	0,031	<0,001	<0,001
Tärkkelys, kg	3,47	2,21	3,50	-1,28	0,108	0,205	<0,001
ME, MJ korjaamaton	256	260	260	2	<0,1	0,451	0,608
OIV, g	2000	1920	2030	-95	0,1	0,674	0,008
PVT, g	746	717	757	-34,5	0,02	0,622	0,013

¹Murskattu rypsin siemen_{jakso2} - (Kontrolli_{jakso1} + Kontrolli_{jakso3})/2

NDF = neutraalidetergenttikuitu, ME = muuntokelpoinen energia, OIV = ohutsuolesta imeytyvä valkuainen, PVT = pötsin valkuaisase

Rasvahappojen osalta murskattu rypsin siemen lisäsi erityisesti *cis*-9 18:1 saantia kontrolliruokintaan verrattuna ($<0,001$, toisen asteen vaikutus) (taulukko 5). Tyydyttyneiden, kertatyydyttymättömien ja monityydyttymättömien rasvahappojen kokonaismäärät lisääntyivät käyräviivaisesti murskattua rypsin siementä syötettäessä verrattuna kontrolliin ($p<0,001$), joten myös kaikkien rasvahappojen kokonaismäärä lisääntyi verrattaessa kontrolliin ($p<0,001$, toisen asteen vaikutus). Murskattu rypsin siemen lisäsi käyräviivaisesti rasvahappojen 16:0, 18:0, 18:2n-6, 18:3n-3 ja *cis*-13 22:1 saantia kontrolliruokintaan verrattuna ($p\leq 0,003$).

Taulukko 5. Rasvahappojen saanti.

Rasvahappo, g/100 g rasva- happoja	Koekäsittely			Murskatun rypsin- siemenen keskimää- räinen vaste ¹	SEM	Merkitsevyys	
	Kontrolli jakso1	Murskattu rypsin- siemen jakso2	Kontrolli jakso3			Lin	2. aste
12:0	<0,01	0,06	<0,01	0,06	0,002	0,037	<0,001
14:0	1,94	2,24	2,08	0,23	0,071	0,002	<0,001
<i>cis</i> -9 14:1	0,14	0,12	0,17	-0,04	0,005	<0,001	<0,001
15:0	0,66	0,73	0,73	0,03	0,022	<0,001	0,036
16:0	72,0	125	115	31,5	4,06	<0,001	<0,001
<i>trans</i> -3 16:1 ²	0,16 (6,34)	0,04 (22,7)	0,17 (5,95)	16,56	0,005	0,698	<0,001
<i>cis</i> -9 16:1	0,85	1,12	0,90	0,25	0,031	0,006	<0,001
17:0	1,09	3,25	1,07	2,17	0,063	0,005	<0,001
18:0	5,05	5,22	4,87	0,26	0,186	0,104	0,003
<i>cis</i> -9 18:1 ³	1,84 (69,4)	2,74 (558)	1,84 (70,0)	488,3	0,015	<0,001	<0,001
<i>cis</i> -11 18:1 ³	117 (10,7)	1980 (44,2)	76,1 (8,66)	34,52	64,68	0,128	<0,001
18:2n-6	98,7	290	94	193,7	5,60	0,015	<0,001
20:0 ³	0,20 (1,59)	0,83 (6,87)	0,17 (1,49)	5,33	0,014	0,003	<0,001
<i>cis</i> -11 20:1	0,09 (1,22)	1,07 (11,9)	0,06 (1,17)	10,71	0,014	<0,001	<0,001
18:3n-3	105	197	99,1	95,0	4,371	0,419	<0,001
20:2n-6 ³	-0,66 (0,22)	-0,05 (0,89)	-0,79 (0,16)	0,70	0,015	<0,001	<0,001
22:0	1,96	4,82	1,72	2,98	0,096	0,656	<0,001
<i>cis</i> -13 22:1	0,23	0,49	0,32	0,22	0,011	<0,001	<0,001
24:0	1,45	2,68	1,23	1,34	0,058	0,045	<0,001
26:0	1,16	0,90	0,80	-0,08	0,032	<0,001	0,035
28:0	1,83	1,31	1,27	-0,24	0,050	<0,001	<0,001
<i>cis</i> -15 24:1 ²	4,83 (0,21)	0,50 (2,02)	6,06 (0,17)	1,83	0,160	0,001	<0,001
SFA	88,7	153	130	43,7	4,65	<0,001	<0,001
MUFA ³	1,95 (89,2)	2,80 (641)	1,94 (87,4)	552,7	0,015	<0,001	<0,001
PUFA	204	488	193	290	9,9	0,063	<0,001
Yhteensä	380	1280	409	885,5	24,5	<0,001	<0,001

¹Murskattu rypsin siemen_{jakso2} - (Kontrolli_{jakso1} + Kontrolli_{jakso3})/2

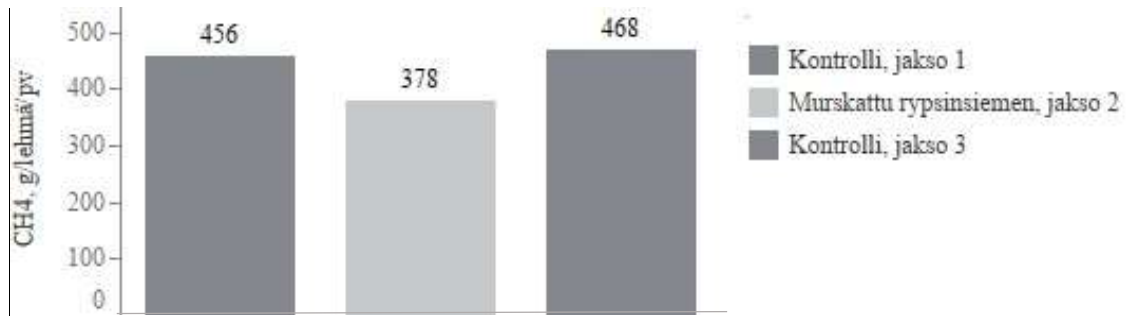
²Käänteislukumuunnos, alkuperäiset arvot on esitetty sulkeissa alapuolella

³Logaritlimuunnos, alkuperäiset arvot on esitetty sulkeissa alapuolella

SFA = tyydyttyneet rasvahapot, MUFA = kertatyydyttymättömät rasvahapot, PUFA = monityydyttymättömät rasvahapot

7.3 Metaani ja muut fermentaatiokaasut

Murskattu rypsinsiemen vähensi 18 % lehmien metaanituotosta (g/pv) verrattuna kontrolliruokintaan (kuva 1). Toisen jakson murskattua rypsinsiementä sisältävän ruokinnan aikana pötsistä peräisin olevan metaanin määrä oli merkitsevästi pienempi kuin ensimmäisen ja kolmannen jakson kontrolliruokinnan aikana ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus).



Kuva 1. Murskatun rypsinsiemenen vaikutus keskimääräiseen eläinakohtaiseen pötsin metaanituotokseen grammoina päivässä (n=23). SEM=16,9.

Laskettaessa metaanintuotanto syötyä kuiva-ainekiloa kohti, toinen jakso vähensi sitä käyräviivaisesti verrattuna ensimmäisen ja kolmannen jakson kontrolliruokintaan ($p < 0,001$) (taulukko 6). Samanlainen vaikutus oli nähtävissä laskettaessa metaanintuotanto tuotettua EKM-kiloa kohti ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus). Murskattu rypsin siemen vähensi hiilidioksidin ja vedyn muodostusta pötsissä kontrolliruokintaan nähden ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus).

Taulukko 6. Fermentaatiokaasujen tuotanto (n=23).

	Koekäsittely			Murskatun rypsin-siemenen keskimääräinen vaste ¹	SEM	Merkitsevyys	
	Kontrolli jakso1	Murskattu rypsin-siemen jakso2	Kontrolli jakso3			Lin	2. aste
Metaani, g/kg kuiva-aineen syönti	22,2	18,0	20,7	-3,5	0,66	0,007	<0,001
Metaani, g/kg EKM ²	14,1	12,1	16,0	-3,0	1,09	0,050	<0,001
Hiilidioksidi, g/pv	12447	11870	12575	-641	352,8	0,735	<0,001
Vety, mg/pv	653	399	598	-227	49,6	0,157	<0,001

¹Murskattu rypsin siemen_{jakso2} - (Kontrolli_{jakso1} + Kontrolli_{jakso3})/2

²Energiakorjattu maito (EKM) on laskettu käyttäen joka toinen päivä mitattuja tankkimaidon pitoisuuksia

7.4 Maitotuotos ja maidon peruskoostumus

Maitotuotos väheni suoraviivaisesti kokeen edetessä ($p < 0,001$), kuten myös energiakorjattu maitotuotos ($p = 0,025$) (taulukko 7). Maidon valkuaispitoisuus lisääntyi käyräviivaisesti ollen suurempi viimeisen jakson aikana kuin kahdella ensimmäisellä jaksolla ($p = 0,01$). Valkuaistuotoksessa ei ollut nähtävissä tällaista vaikutusta, vaan se väheni suoraviivaisesti kokeen edetessä ($p = 0,007$). Laktoosituotos väheni suoraviivaisesti kokeen edetessä ($p < 0,001$), kuten myös maidon ureapitoisuus ($p = 0,028$).

Taulukko 7. Maitotuotos ja maidon koostumus (n=13).

	Koekäsittely			Murskatun rypsin-siemenen keskimääräinen vaste ¹	SEM	Merkitsevyys	
	Kontrolli jakso1	Murskattu rypsin-siemen jakso2	Kontrolli jakso3			Lin	2. aste
Tuotokset							
Maito, kg/pv	31,4	29,7	27,6	0,2	2,66	<0,001	0,638
EKM, kg/pv ²	32,4	30,8	29,0	0,1	2,61	0,025	0,796
Rasva, g/pv	1317	1265	1181	16	113,0	0,123	0,727
Valkuainen, g/pv	1129	1049	1027	-29	82,8	0,007	0,488
Laktoosi, g/pv	1413	1342	1231	20	132,6	<0,001	0,418
Maidon koostumus							
Rasva, g/kg	42,8	43,3	43,6	0,1	2,27	0,726	0,996
Valkuainen, g/kg	36,4	36,3	38,1	-1,0	1,03	0,002	0,010
Laktoosi, g/kg	44,5	44,7	44,1	0,4	0,60	0,216	0,156
Urea, mg/dl	27,3	27,0	24,9	0,9	1,37	0,028	0,254

¹Murskattu rypsin-siemen_{jakso2} - (Kontrolli_{jakso1} + Kontrolli_{jakso3})/2

²Energiakorjattu maito (EKM) on laskettu käyttäen lehmäkohtaisia pitoisuuksia

7.5 Maidon rasvahappokoostumus

Murskattu rypsin-siemen vähensi maitorasvassa tyydyttyneiden rasvahappojen kokonaismäärää 16 % verrattuna kontrolliin ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus) (taulukko 8). Maitorasvan runsain tyydyttynyt rasvahappo oli 16:0, ja verrattuna kontrolliin sen osuus maitorasvasta väheni 34 % murskattua rypsin-siementä annettaessa ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus). Rypsin-siemenruokinnassa rasvahapon 18:0 osuus lähes tuplaantui, sillä sen osuus maitorasvasta lisääntyi 93 % kontrolliruokintaan nähden ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus). Yksi havainto poistettiin ensimmäiseltä koejaksolta kudorasvojen mobilisoinnin takia, mikä oli yhteydessä siihen, että kyseisen lehmän poikimisesta oli kulunut lyhyt aika.

Taulukko 8. Maidon rasvahappokoostumus.

Rasvahappo, g/100 g rasvahappoja	Koekäsittely			Murskatun rypsin- siemenen keskimää- räinen vaste ¹	SEM ²	Merkitsevyys	
	Kont- rolli jakso1	Murskattu rypsin- siemen jakso2	Kont- rolli jakso3			Lin	2. aste
N	12	13	13				
4:0	3,32	3,06	3,12	-0,16	0,085	0,002	0,030
5:0	0,03	0,02	0,02	-0,01	0,002	<0,001	<0,001
6:0	2,15	1,64	2,03	-0,45	0,047	<0,001	<0,001
7:0	0,03	0,02	0,03	-0,01	0,002	0,511	<0,001
8:0	1,36	0,91	1,26	-0,40	0,035	<0,001	<0,001
9:0	0,04	0,02	0,04	-0,02	0,003	0,030	<0,001
10:0	3,25	1,88	2,95	-1,22	0,101	<0,001	<0,001
11:0	0,43	0,24	0,41	-0,18	0,019	0,033	<0,001
12:0	3,95	2,19	3,63	-1,60	0,131	<0,001	<0,001
13:0	0,14	0,08	0,13	-0,06	0,008	0,023	<0,001
14:0	12,5	8,91	12,0	-3,34	0,250	0,004	<0,001
15:0	1,33	0,88	1,26	-0,42	0,039	0,010	<0,001
16:0	32,3	21,5	33,1	-11,2	0,48	0,609	<0,001
17:0	0,69	0,43	0,68	-0,26	0,012	0,027	<0,001
18:0	8,55	16,2	8,26	7,80	0,379	0,364	<0,001
<i>cis</i> -9 18:1	18,0	29,6	18,4	11,4	0,60	0,013	<0,001
<i>cis</i> -11 18:1	0,71	0,73	0,65	0,05	0,027	0,081	0,029
<i>cis</i> 18:1 yhteensä	18,9	30,7	19,3	11,6	0,62	0,017	<0,001
<i>trans</i> -10 18:1 ³	7,19	3,29	6,91		0,209	0,004	<0,001
	(0,14)	(0,32)	(0,15)	0,18			
<i>trans</i> -11 18:1 ³	1,18	1,11	1,78		0,062	0,950	0,330
	(0,88)	(0,92)	(0,89)	0,04			
<i>trans</i> 18:1 yhteensä ³	0,51	0,41	0,43		0,016	<0,001	<0,001
	(1,98)	(3,36)	(2,41)	1,17			
18:2n-6	1,29	1,05	1,26	-0,23	0,044	0,187	<0,001
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 18:2	0,47	0,50	0,49	0,02	0,035	0,503	0,561
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15 18:2 ³	7,08	12,2	7,26		0,593	0,317	<0,001
	(0,15)	(0,09)	(0,15)	-0,06			
18:3n-3	0,41	0,35	0,37	-0,04	0,015	0,006	<0,001
<i>cis</i> -13 22:1	0,007	0,006	0,008	-0,002	0,0005	0,017	<0,001
SFA yhteensä	72,3	60,1	71,2	-11,7	0,69	0,002	<0,001
MUFA yhteensä	24,4	36,9	25,4	12,0	0,64	<0,001	<0,001
PUFA yhteensä	2,69	2,26	2,66	-0,42	0,077	0,351	<0,001
Tuntemattomat	0,68	0,79	0,71	0,10	0,025	0,123	<0,001
<i>trans</i> yhteensä ³	0,32	0,23	0,28		0,010	0,004	<0,001
	(3,15)	(4,53)	(3,61)	1,15			

¹Murskattu rypsin siemen_{jakso2} - (Kontrolli_{jakso1} + Kontrolli_{jakso3})/2

²Jakson 1 keskiarvon keskivirhe (SEM), jaksojen 2 ja 3 SEM saadaan kertomalla taulukon SEM luvulla 0,981

³Käänteislukumuunnos, alkuperäiset arvot on esitetty sulkeissa alapuolella

Kertatydyttymättömien rasvahappojen määrä maitorasvassa lisääntyi kontrolliruokintaan nähden 48 % murskatun rypsin siemenen vaikutuksesta ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus). Tämä muutos johtui pitkälti rasvahapon *cis*-9 18:1 osuuden muutoksesta. *Cis*-9 18:1 oli pääasiallinen kertatydyttymätön rasvahappo ja sen osuus maidon rasvahapoista lisääntyi murskattua rypsin siementä annettaessa 63 % kontrolliin verrattuna ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus).

Maidon *trans*-rasvahapoista vakseenihapon *trans*-11 18:1 osuudessa koeruokintojen välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää suoraviivaista tai käyräviivaista eroa. Sama koski rasvahappoa *cis*-9,*trans*-11 18:2. Verrattuna kontrolliin *trans*-rasvahappojen kokonaismäärä lisääntyi 34 % murskattua rypsiensiemäntä annettaessa ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus). Kuitenkin, *trans*-rasvahappojen kokonaispitoisuus maitorasvassa oli rypsiensiemenuokinnan aikana verrattain pieni.

Murskattua rypsiensiemäntä annettaessa maitorasvan 18:2n-6- ja 18:3n-3-pitoisuudet olivat pienemmät kuin kontrolliruokinnan aikana ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus), vaikkakin muutokset olivat lukuarvallisesti hyvin pieniä. Monitydyttymättömien rasvahappojen kokonaismäärä väheni murskatun rypsiensiemenen vaikutuksesta verrattuna kontrolliin ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus). Murskattu rypsiensiemän vähensi rasvahapon *cis*-13 22:1 määrää maitorasvassa 20 % kontrolliruokintaan nähden ($p < 0,001$, toisen asteen vaikutus).

8 TULOSTEN TARKASTELU

8.1 Rehujen kemiallinen koostumus ja rehuarvot

Säilörehun pH oli 4,70. Tämä olisi laatuvaatimusten (MMM 1999) mukaan yli tavoitearvojen, mikäli kuiva-ainepitoisuutta (411 g/kg) ei otettaisi huomioon. Kuiva-ainepitoisuuden ollessa 400-425 g/kg pH saa jäädä tasolle 4,7-4,8 (MMM 1999). Ruokintakokeen onnistumista ei haluttu riskeerata, joten säilörehuun lisättiin propionihappoa jälkilämpenemisen ehkäisemiseksi. Sitä lisättiin tuoretta säilörehutonnia kohden 1 l seosrehun valmistuksen yhteydessä. Rehun jälkilämpenemiseen liittyviä ongelmia ei kokeen aikana havaittu.

Vesiliukoisten hiilihydraattien eli sokerin pitoisuus säilörehussa oli 165 g/kg ka. McDonalidin ym. (2011) mukaan kuiva-ainepitoisuuden ollessa suuri on tavallista, että pH:n lisäksi sokeripitoisuus jää tavanomaista suuremmaksi. Korkean kuiva-aineen rehussa säilönnän aikaista maitohappokäymistä on vähemmän kuin matalan kuiva-aineen rehussa, jolloin myöskään sokerin loppuminen kesken ei ole ensisijainen riski. Lisäksi kyseisessä

säilörehussa käyminen oli rajoitettua, sillä pH laskettiin muurahaishappopohjaista säilöntäainetta käyttäen. Ammoniumtypen osuus kokonaistypestä, maitohappopitoisuus ja VFA:t yhteensä olivat kaikki laatuvaatimusten (MMM 1999) tavoitearvoissa. Säilörehun D-arvo oli 696 g/kg ka ja muuntokelpoisen energian pitoisuus 11,1 MJ/kg ka, mikä loi hyvän perustan koeruokinoille. Raakavalkuaista säilörehussa oli maltillisesti (136 g/kg ka).

Kokeessa käytetty kaura sisälsi paljon valkuaista, sillä sen raakavalkuaispitoisuus oli 158 g/kg ka. Kontrolliruokinnan ohran raakavalkuaispitoisuus oli puolestaan 117 g/kg ka. Tämä ero ei kuitenkaan vaikuttanut seosväkirehujen raakavalkuaispitoisuuteen juurikaan (kontrollissa 201 g/kg ka ja rypsin siemenruokinnassa 195 g/kg ka). Tämä johtui siitä, että ohran energiaa korvattiin rypsilipidien energialla ja raakavalkuaista tuli ruokintaan rypsin siemenen kautta. Ohra ja kaura eroavat hieman tuotantovaikutuksiltaan toisistaan, ja lisätutkimuksia ajatellen yksi kiinnostava lähestymistapa aiheeseen olisi se, että vertailtavat ruokinnat olisivat koostumuskeltaan identtisiä ja eroaisivat toisistaan ainoastaan lipidilisän suhteen.

8.2 Syönti ja ravintoaineiden saanti

Kontrolliruokinnan kokonaisrasvan pitoisuus oli 36 g/kg ka, kun vastaavasti murskattua rypsin siementä syötettäessä se oli 86 g/kg ka. Lipidilisästä puhuttaessa tarkoitetaan näiden erotusta, ja siten lipidilisä nyt tehdyssä tutkimuksessa oli 50 g/kg ka. Hristovin ym. (2011) tutkimuksessa tarkasteltiin runsaasti rypsiöljyä sisältävien raaka-aineiden käyttöä lypsylehmien rehustuksessa ja todettiin, että lisätutkimuksia kaivataan optimaalisesta annostasosta, jotta vältetään kuiva-aineen syönnin ja maitotuotoksen väheneminen. Mahdollisimman optimaalista annostaso tavoiteltiin nyt tehdyssä tutkimuksessa, ja sopivaa lipidilisää kartoitettiin varsinaista ruokintakoetta edeltäneellä pilottikokeella. Pilottikokeen lipidilisä oli 55 g/kg ka, josta sitä pienennettiin varsinaiseen ruokintakokeeseen tasolle 50 g/kg ka. Pienennys oli onnistunut, sillä nyt tehdyssä tutkimuksessa maitotuotos ei enää vähentynyt pilottikokeen tavoin.

Aiemmassa suomalaistutkimuksessa rypsilipideillä saavutettiin selkeä (22,6 %) vähennys metaanintuotannossa (Bayat ym. 2018). Kyseessä oli tuolloin saman suuruinen lipidilisä kuin nyt tehdyssä tutkimuksessa. Tällöin kuitenkin kuiva-aineen syönti väheni 2,7 kiloa

verrattuna kontrolliin. Ruokinnassa lipidien lähde oli rypsiöljy. Givens ym. (2009) syötivät rypsiä eri olomuodoissa, ja kokonaisia tai murskattuja siemeniä syötettäessä kuiva-aineen syönti ei vähentynyt, mutta rypsiöljyä annettaessa se väheni. Vaikuttaisi siltä, että olomuotona siemenet toimivat kaikista parhaiten, kun halutaan minimoida kuiva-aineen syönnin väheneminen. Kyseisessä Givensin ym. (2009) tutkimuksessa lipidilisän suuruus oli 49 g/kg ka.

Hristovin ym. (2011) mukaan kuiva-ainesyöntiä vähentävän vaikutuksen taustalla voi olla maittavuus tai elimistön energiansaannin säätely. Nyt tehdyssä tutkimuksessa minkäänlaisia maittavuusongelmia ei murskattua rypsiä syötettäessä havaittu. Vaikuttaisi siltä, että kuiva-aineen syönnin taustalla on maittavuuden sijaan jokin muu vaikutusmekanismi, mikä saattaa liittyä kuidun sulatuksen vähenemiseen murskatun rypsiä syönnin vaikutuksesta. Tämän mahdollisuuden ja sen suuruuden arviointiin tarvitaan sulavuustiedot, jotka eivät tähän tutkielmaan ehtineet.

Kliem ym. (2011) lisäsivät murskattua rypsiä maissipohjaiseen ruokintaan. Korkeimmalla lisäystasolla lipidilisä oli 57 g/kg ka, mikä ei kuitenkaan vähentänyt kuiva-aineen syöntiä. Kyseisessä tutkimuksessa rypsiä murskattiin yhtä aikaa vehnän kanssa, jolloin vehnä sitoi siemenistä vapautuvaa öljyä. Näin suuren lisäyksen voisi olettaa vaikuttavan vähentävästi kuiva-aineen syöntiin etenkin maissipohjaisessa ruokinnassa, mutta tutkimuksessa alleviivattiin rypsin olomuodon merkitystä.

Väkirehun osuus ruokinnassa lisääntyi murskattua rypsiä syötettäessä. Ero oli numeerisesti tosin pieni, enintään yhden prosenttiyksikön verran (49,9 ja 48,9 % jaksoille 2 ja 3, vastaavasti). Tavoitearvo väkirehun osuudelle ruokinnoissa oli 50 %, joten hyvin lähelle tavoitetta päästiin. Kuitenkin, kokeeseen sisältyi mitä luultavimmin vaihtelua seoksen kuiva-ainepitoisuudessa, sillä vaihtelua oli havaittavissa pyöröpaalien kesken. Tämä heijastuu seoksen sisältämään väkirehun määrään. Toisaalta säilörehu ei vaihtunut niin merkittävästi, että kyseessä olisi ollut esimerkiksi eri satojen rehut. Paaliruokinnan ja poikkeuksellisen kuivasta kasvukaudesta johtuneen vedenlisäystarpeen takia seosrehun väkirehupitoisuus ei ollut niin hyvin hallittavissa kuin mitä se olisi ollut laakasiilorehun ja valmiiksi optimaalisen kuiva-aineen kanssa.

8.3 Metaani ja muut fermentaatiokaasut

Päivittäinen lehmäkohtainen metaanituotos pötsistä väheni 18 % murskatun rypsin siemenen vaikutuksesta. Tehtyjen mittausten perusteella on selvästi nähtävissä, että kokeen edetessä kolmanteen jaksoon metaanintuotanto palasi ensimmäisen koejakson aikaiselle tasolle. Tuloksissa olisi enemmän tulkinnanvaraa, mikäli näin ei olisi tapahtunut.

Martinin ym. (2010) mukaan lipidilisän kapasiteetti metaanintuotannon vähentämiseen on keskimäärin 3,8 % per 10 g lipidejä/kg ka. Moaten ym. (2011) tutkimuksessa päädyttiin lukemaan 3,5 % per 10 g lipidejä/kg ka. Nyt murskatuilla rypsin siemenillä tehdyssä tutkimuksessa se oli 3,6 % per 10 g lisättyjä lipidejä/kg ka, mikä on samaa suuruusluokkaa. Martin ym. (2010) korostivat vaikutuksen olevan riippuvainen lipidien lähteestä ja ominaisuuksista, kuten esimerkiksi hiiliketjun pituudesta ja kaksoissidosten määrästä.

Braskin ym. (2013) tutkimuksessa rypsiä syötettiin kolmessa eri olomuodossa: puristena, murskattuina siemeninä ja öljynä. Kaikki olomuodot vähensivät metaanintuotantoa kontrolliruokintaan verrattuna, mutta olomuotojen välillä ei ollut merkitsevää eroa. Lipidilisiä murskattuja rypsin siemeniä sisältävässä ruokinnassa oli 27 g/kg ka ja se vähensi syötyä kuiva-ainekiloa kohden laskettua metaanituotosta 13 % verrattuna kontrolliin. Nyt tehdyssä tutkimuksessa vastaava vähennys oli 16 %. Tulos oli yhtä suuri kuin Beaucheminin ym. (2009) tutkimuksessa, jossa käytössä oli kolmen eri öljykasvin murskattuja siemeniä. Lipidilisiä oli rypsi ruokinnassa 39 g/kg ka. Kaksi muuta öljykasvia olivat auringonkukka ja pellava, mutta ainoastaan rypsi vähensi metaanintuotosta syötyä kuiva-ainekiloa kohti.

Bayat ym. (2017) havaitsivat, että auringonkukkaöljyn metaanintuotantoa vähentävä vaikutus oli voimakkaampi (26 % vs. 17 %), kun käytössä oli vähän väkirehua sisältävä ruokinta (väkirehun ja karkearehun suhde 35:65) verrattuna paljon väkirehua sisältäneeseen ruokintaan (65:35, vastaavasti). Ruokinnan NDF-pitoisuuden onkin todettu olevan yhteydessä metaanintuotantoon: mitä suurempi NDF-pitoisuus sitä enemmän metaania muodostuu (Ellis ym. 2007). Nyt tehdyssä tutkimuksessa ja suomalaisessa tuotannossa ylipäätään lipidilisän potentiaali vähentää metaanintuotantoa on erityisen suuri, sillä lypsylehmien ruokinta perustuu heinäkasvisäilörehuun, jossa on suurempi NDF-pitoisuus ja pienempi tärkkelyspitoisuus verrattuna maailmalla yleiseen maissipohjaiseen ruokintaan.

Bayatin ym. (2017) tutkimuksessa metaanintuotanto oli kaikista pienin silloin, kun lipidilisän kanssa samaan aikaan väkirehuprosentti oli suuri (lipidilisän suuruus 50 g/kg ka). Lähteen mukaan on kuitenkin huomioitava väkirehun ja säilörehun tuotannon eroavaisuudet ilmastovaikutuksiltaan sekä se, että korkea väkirehuprosentti tarkoittaa kilpailun lisääntymistä ihmisille käyttökelpoisista ravinnonlähteistä ja suurempaa riskiä lypsylehmien hapanpötsiongelmiille.

Lipidilisä vähensi metaanintuotantoa Bayatin ym. (2017) tutkimuksessa ainakin osittain sen takia, että orgaanisen aineen sulatus pötsissä väheni. Palmqvistin ja Jenkinsin ym. (1980) mukaan lipidit korvaavat energia-aineenvaihdunnassa hiilihydraatteja, jolloin pötsifermentaatio vähenee. Näin voisi olettaa käyneen nyt tehdyssä tutkimuksessa. Metaanintuotannon väheneminen on useamman tekijän summa, johon sisältyy tyydyttymättömien rasvahappojen biohydrogenaatio. Tämä kytkeytynee ainakin jossain laajuudessa siihen, että nyt tehdyssä tutkimuksessa pötsin vetykuorma väheni selvästi (36 %). Sellulolyttiset organismit sekä metanogeeniset arkeonit sietävät vähiten muutoksia ja niiden lukumäärä herkimmin vähenee pötsin olosuhteiden muutosten takia (Slyter 1976, ref. Van Soest 1994). Pitkäketjuiset rasvahapot ja etenkin tyydyttymättömät rasvahapot vaikuttavat metanogeenisten arkeonien aktiivisuuteen (Sousa ym. 2013), joten rypsin sisältämän kertatyydyttymättömän *cis*-9 18:1 voisi olettaa vaikuttaneen omalta osaltaan tuloksiin.

Käytännön sovelluksia ajatellen herää kysymys, onko murskatun rypsin siemenen metaanintuotantoa vähentävä vaikutus pysyvä vai väliaikainen. Monet aiheeseen liittyvät ruokintakokeet ovat olleet lyhytaikaisia. Alstrup ym. (2015) selvittivät pidempiaikaista vaikutusta ja syöttivät tutkimuksessaan murskattua rypsin siementä lypsylehmille koko laktaatiokauden ajan. Murskatun rypsin siemenen metaanintuotantoa rajoittava vaikutus ei vähentynyt laktaatiokauden edetessä. Kyseisen tutkimuksen perusteella vaikuttaisi siltä, että pötsimikrobit eivät adaptoidu vaan murskatun rypsin siemenen metaanintuotantoa vähentävä vaikutus on pysyvä.

Regina ym. (2014) arvioivat erilaisten ruokinnallisten keinojen vaikutusta Suomen naudakarjatalouden kasvihuonekaasupäästöihin Karoline-mallia käyttäen. Lopputulos oli, että ruokintaan lisätyt lipidit olisivat tehokkain keino vähentää kasvihuonekaasupäästöjä. Malli kuitenkin vaikuttaisi estimoineen päästövähennykset melko paljonkin alakanttiin nyt tehtyyn tutkimukseen verrattuna. 0,5 kilon päivittäisen öljylisän ruokinnassa arvioi-

tiin vähentävän metaanintuotantoa 3,6 % kontrolliin verrattuna. Kyseisen lipidilisän suuruus olisi 20 kilon kuiva-aineen syönnillä 25 g/kg ka eli puolet nyt tehdyn tutkimuksen lipidilisästä. Vaikka päästövähennys 3,6 % kerrottaisiin kahdella, jäädään silti kauas nyt saadusta metaanintuotannon vähenemisestä, joka oli 18 %.

Regina ym. (2014) otaksuivat päästövähennysten jäävän saavuttamatta jo senkin takia, että rypsin viljelyala ei riittäisi kattamaan tarvetta. Rypsin viljelyala Suomessa on viime vuosina vähentynyt entisestään (Rinne 2020). Yleistyvä käyttö murskatun rypsin siemenen muodossa voisi edistää viljelyalan lisääntymistä. Rypsi jättää maaperään enemmän hiiltä kuin esimerkiksi ohra (Regina ym. 2014), sillä se on syväjuurinen kasvi, jolla on lisäksi hyvä esikasviarvo. Murskatun rypsin siemenen ansiosta useampi teollisuuteen ja logistiikkaan liittyvä kustannuksia lisäävä prosessi jäisi välistä, sillä menetelmä mahdollistaa jopa rypsin tilakäytön. Maan pohjoisemmissa osissa on pienempi tuholaispaine kuin etelässä, mikä vähentää tarvetta työläille kasvinsuojelutoimenpiteille ja näkyisi matalampana tuotantokustannuksena. Lähtökohtana murskatun rypsin siemenen sisällyttämiseksi lypsylehmien ruokintaan olisi kuitenkin se, että tuotteesta ja jalostukseen menevästä maidosta saisi tavanomaista paremman hinnan. Jatkokehitystä tarvitaan, jotta tällainen tuote saataisiin markkinoille.

8.4 Maitotuotos ja maidon peruskoostumus

Lipidien suuren energiapitoisuuden takia eri ruokintojen aikana muuntokelpoisen energian saannissa ei ollut eroa. Tämä sai aikaan sen, että kuiva-aineen syönnin vähenemisestä huolimatta maitotuotos pysyi ennallaan. Monissa muissakaan tutkimuksissa maitotuotos ei ole vähentynyt rypsilipidien vaikutuksesta (Murphy ym. 1987, Beauchemin ym. 2009, Kliem ym. 2011, Brask ym. 2013, Johansson ym. 2014, Bayat ym. 2018). Rypsin olomuotoja verranneessa Givensin ym. (2009) kokeessa maitotuotos väheni kokonaisia siemeniä syötettäessä, mutta tätä ei tapahtunut käytettäessä murskattuja rypsin siemeniä. Tekijät totesivat, että kyseisistä olomuodoista murskattu rypsin siemenen on paras vaihtoehto, kun halutaan välttää negatiiviset vaikutukset maidontuotantoon.

Maitotuotos väheni suoraviivaisesti kokeen edetessä. Tämä kuitenkin johtui enemmän laktaatiokauden vaiheesta kuin muutoksesta ravintoaineiden saannissa. Maitotuotoksen

lisääntymistä ei ole tarkastelluissa tutkimuksissa tullut vastaan, eikä sitä yritetäkään tavoitella, sillä tuotostappioiden välttäminen on sinällään tavoiteltava lopputulos.

Lisättäessä rypsilipidejä ruokintaan maidon rasvapitoisuus on joissain tutkimuksissa vähentynyt (Ryhänen ym. 2005, Rego ym. 2009). Nyt tehdyssä tutkimuksessa se pysyi ennallaan kontrolliruokintaan verrattuna, mikä on ollut tuloksena myös muun muassa Murphyn ym. (1987), Beaucheminin ym. (2009), Givensin ym. (2009) ja Kliemin ym. (2011) tutkimuksissa. Samoissa kokeissa myöskään maidon valkuaispitoisuus ei ole vähentynyt rypsilipidien vaikutuksesta, mikä on yhtäpitävä tulos nyt tehdyn tutkimuksen kanssa.

8.5 Maidon rasvahappokoostumus

Kliemin ym. (2011) ja Bayatin ym. (2018) tutkimuksissa tulokset olivat hyvin saman suuntaiset kuin tässä tutkimuksessa. Rypsilipidilisä vähensi 16:0 ja tyydyttyneiden rasvahappojen kokonaismäärää maitorasvassa, ja rasvahappojen *cis*-9 18:1 ja 18:0 osuudet lisääntyivät. Kliemin ym. (2011) tutkimuksessa korkeimmalla lisäyستasolla lipidilisä oli 57 g/kg ka, kun Bayatin ym. (2018) tutkimuksessa lipidilisä oli 50 g/kg ka.

Givensin ym. (2009) tutkimuksessa lipidilisä oli 49 g/kg ka, jolloin murskattu rypsiensiemien vähensi 16:0 määrää maitorasvassa 37 %, kun vastaava vähennys tässä tutkimuksessa oli 34 %. Tyydyttyneiden kokonaismäärä väheni 12 %, mikä on hieman vähemmän kuin nyt tehdyssä tutkimuksessa, kun tyydyttyneiden rasvahappojen kokonaismäärä väheni 16 %. Givensin ym. (2009) tutkimuksessa murskattu rypsiensiemien lisäsi 18:0 ja *cis*-9 18:1 osuutta maidon rasvahappokoostumuksessa 58 % ja 24 %, kun tässä tutkimuksessa lisäykset olivat 93 % ja 63 %, vastaavasti. Voidaankin sanoa, että murskattu rypsiensiemien omaa metaanintuotannon vähentämispotentiaalinsa lisäksi erittäin hyvät edellytykset muuttaa maidon rasvahappokoostumusta pehmeämpään suuntaan.

16:0 on yksi niistä rasvahapoista, joiden liiallinen saanti lisää sydän- ja verisuonitautien riskiä (Shingfield ym. 2008). Rasvahappo 18:0 ei lisää valtimotaudin riskiä (Chilliard ym. 2007), joten on merkityksellistä, että se osoittautui huomattavalta osalta 16:0:n korvaajaksi tässä tutkimuksessa yhdessä *cis*-9 18:1 kanssa. Toisaalta näyttöä on myös siitä, että tyydyttyneet rasvahapot eivät lisää sydän- ja verisuonitautien riskiä (Lock ja Bauman 2011).

Rypsiöljyä, kokonaisia rypsinsiemeniä ja murskattuja rypsinsiemeniä verranneessa suomalaistutkimuksessa saatiin selville, että siemenkuoren murskaaminen on tarpeellista (Kairenius ym. 2009). Rasvahapon *cis*-9 18:1 osuus maitorasvassa lisääntyi murskattuja rypsinsiemeniä syötettäessä enemmän kuin annettaessa lehmille kokonaisia siemeniä, ja yhtä paljon kuin annettaessa lehmille rypsiöljyä (*cis*-9 18:1 osuudet (%) maidon rasvahapoista murskatulla rypsinsiemenellä, kokonaisella rypsinsiemenellä ja rypsiöljyllä 30,2, 26,2 ja 31,0, vastaavasti). Syötettäessä kokonaisia rypsinsiemeniä tyydyttymättömiä rasvahappoja virtasi enemmän juoksutusmahaan kuin muissa ruokinnoissa, mutta *cis*-9 18:1- ja monitydyttymättömien rasvahappojen lisäys ei päätynyt maitoon saakka. Rypsilipidit eivät vaikuttaneet negatiivisesti kuiva-aineen syöntiin, maitotuotokseen tai maidon peruskoostumukseen. Ruokintojen lipidilisa oli 50 g/kg ka ollen yhtä suuri nyt tehdyn tutkimuksen kanssa.

Rasvahapon 18:2n-6 biohydrogenoituuessa muodostuu maitoon välivaiheiden kautta *cis*-9,*trans*-11 CLA:ta (Kepler ym. 1966), joka on nimetty rumeenihapoksi (Kramer ym. 1998). Nimi viittaa siihen, että se on märehäjäperäisen CLA:n yleisin isomeeri tyypillisesti yli 90 % osuudella maidon *trans*-rasvahapoista (Griinari ja Bauman 1991). Sillä on todettu olevan ihmisterveydessä antikarsinogeeninen vaikutus (Torre ym. 2005). Tässä tutkimuksessa lipidilisa ei lisännyt rumeenihapon pitoisuutta maitorasvassa, mutta tähän vaikuttaakin paljolti kasvilaji, josta lipidilisa on peräisin. Regon ym. (2009) mukaan auringonkukka on parempi 18:2n-6 lähde kuin rypsi, ja pellava puolestaan rypsiä parempi 18:3n-3 lähde. Rypsi on omiaan lisäämään *cis*-9 18:1 saantia ja pitoisuutta maitorasvassa, mikä havaittiin selvästi myös nyt tehdyssä tutkimuksessa.

9 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tässä tutkimuksessa tavoitteena oli murskatun rypsinsiemenen avulla vähentää metaanin muodostumista pötsissä ja sitä kautta hillitä maidontuotannosta peräisin olevia kasvihuonekaasupäästöjä. Tulokset vastasivat olettamusta, jonka mukaan murskatun rypsinsiemenen lipidit vähentävät metaanintuotantoa pötsissä. Tulos oli selkeä ja sen merkityksellisyttä lisää se, että tutkimus toteutettiin maatilamittakaavassa.

Toinen työn tavoite oli saada aikaan päästövähennys ilman maitotuotoksen heikkene- mistä. Pyrkimykseen saavuttaa tämä tavoite liittyi kiinteästi lipidilisän suuruus, jota kar- toitettiin tutkimusta edeltäneessä pilottikokeessa. Optimaalinen taso selkeiden tulosten saavuttamiseksi löydettiin ja tätä kohtuullista lipidilisää käytettiin ilman, että maitotuotos heikkeni. Taustalla maitotuotoksen pysymiselle ennallaan vaikutti lipidien suuri energia- pitoisuus, mikä kompensoi kuiva-aineen syönnin vähenemistä.

Tulokset olivat myös kolmannen hypoteesin mukaisia. Maitorasva pehmeni, kun osa tyy- dyttyneistä rasvahapoista korvaantui tyydyttymättömillä rasvahapoilla. Nykytietämyksen valossa tällä voi olla positiivisia vaikutuksia ihmisterveyteen. Nyt tehty tutkimus oli uraa- uurtava, sillä aiemmin rypsilipidien metaanintuotantoa vähentävä potentiaali on tiedos- tettu, mutta keinoa on pidetty liian kalliina ja hankalana toteuttaa.

10 KIITOKSET

Haluan kiittää innostavasta tuesta työn ohjaajaa Anni Halmemies-Beauchet-Filleauta. Kokeen käytännön osuuden aikaisesta hyvästä yhteistyöstä tahdon osoittaa mitä lämpi- mimmät kiitokset Kasper Ojalalle. Hänen lisäksi kiitokset koko Viikin opetus- ja tut- kimustilan henkilökunnalle, erityisesti Karri Kauppiselle ja Mikko Latulle. Saamastani korvaamattomasta vertaistuesta kiitän Hanna-Kaisa Ruuskasta ja Paula Rissasta. Työn varsinaisen kirjoittamisvaiheen tuesta haluan kiittää Seija Jaakkolaa, Elena Korjusta ja äitiäni Elisa Korjusta. Lämpimät kiitokset myös muulle lähipiirilleni ja ystäväilleni. Lo- puksi kiitokset tutkimusta rahoittaneelle EIT:lle, joka mahdollisti tämän tutkimuksen to- teuttamisen käytännössä.

LÄHTEET

- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 83: 1598-1624.
- Alstrup, L., Hellwing, A. L. F, Lund, P. & Weisbjerg, M. R. 2015. Effect of fat supplementation and stage of lactation on methane production in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 207: 10-19.
- AOAC.1995. Official methods of analysis, 16th edition. Association of official analytical chemists, Arlington, VA, USA.
- Bayat, A. R., Ventto, L., Kairenius, P., Stefanski, T., Leskinen, H., Tapio, I., Negussie, E., Vilkki, J. & Shingfield, K. J. 2017. Dietary forage to concentrate ratio and sunflower oil supplement alter rumen fermentation, ruminal methane emissions, and nutrient utilization in lactating cows. *Translational Animal Science* 1: 277-286.
- Bayat, A. R., Tapio, I., Vilkki, J., Shingfield, K. J. & Leskinen, H. 2018. Plant oil supplements reduce methane emissions and improve milk fatty acid composition in dairy cows fed grass silage-based diets without affecting milk yield. *Journal of Dairy Science* 101: 1136-1151.
- Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Benchaar, C. & Holtshausen, L. 2009. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science* 92: 2118-2127.
- Boadi, D., Benchaar, C., Chiquette, J. & Massé, D. 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *Canadian Journal of Animal Science* 84: 319-335.

- Brask, M., Lund, P., Weisbjerg, M. R., Hellwing, A. L. F., Poulsen, M., Larsen, M. K. & Hvelplund, T. 2013. Methane production and digestion of different physical forms of rapeseed as fat supplements in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96: 2356-2365.
- Chilliard, Y. & Ferlay, A. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reproduction nutrition development* 44: 467-492.
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J. & Doreau, M. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 828-855.
- Czerkawski, J. W. & Clapperton, J. L. 1984. Fats as energy-yielding compounds in the ruminant diet. Teoksessa: Wiseman, J. (toim.). *Fats in Animal Nutrition*. London, UK: Butterworths. s. 249-263.
- Doreau, M., Legay, F. & Bauchart, D. 1991. Effect of source and level of supplemental fat on total and ruminal organic matter and nitrogen digestion in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 74: 2233-2242.
- Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T. & Webster, G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72: 68-78.
- Ellis, J. L., Kebreab, E., Odongo, N. E., McBride, B. W., Okine, E. K. & France, J. 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science* 90: 3456-3467.
- Emery, R. S. 1978. Feeding for increased milk protein. *Journal of Dairy Science* 61: 825-828.
- FAOSTAT 2010. Emissions by sector. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/EM/visualize>. Vienna, Austria: Database of Food and Agriculture, Organization of the United Nations. Julkaistu 2016, viitattu 16.9.2019.

FAOSTAT 2017. Agriculture total. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/GT/visualize>. Vienna, Austria: Database of Food and Agriculture, Organization of the United Nations. Julkaistu 2017, viitattu 16.9.2019.

Friedel, K. 1990. Die Schätzung des energetischen Futterwertes von Grobfutter mit Hilfe einer Cellulasemethode. [The estimation of the energetic feeding value of roughages by means of a cellulase method]. Wissenschaftliche Zeitung Universität Rostock, N-Reihe 39: 78–86.

Givens, D. I., Kliem, K. E., Humphries, D. J., Shingfield, K. J. & Morgan, R. 2009. Effect of replacing calcium salts of palm oil distillate with rapeseed oil, milled or whole rapeseeds on milk fatty-acid composition in cows fed maize silage-based diets. *Animal* 3: 1067-1074.

Griinari, J. M. & Bauman, D. E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. Teoksessa: Yurawecz, M. P., Mossoba, M. M., Kramer, J. K. G., Pariza, M. W. & Nelson, G. J. (toim.) *Advances in conjugated linoleic acid research Volume I*. Champaign, Illinois, USA: AOCS, Your Global Fats & Oils Connection. s. 180-200.

Heuzé V., Tran G., Sauvant D., Lessire M. & Lebas F. 2019. Rapeseed meal. <https://www.feedipedia.org/node/52>. Feedipedia-ohjelma, jota ylläpitävät INRA, CIRAD, AFZ ja FAO. Julkaistu 2019, viitattu 8.10.2019.

Hristov, A. N., Domitrovich, C., Wachter, A., Cassidy, T., Lee, C., Shingfield, K. J., Kairenius, P., Davis, J. & Brown, J. 2011. Effect of replacing solvent-extracted canola meal with high-oil traditional canola, high-oleic acid canola, or high-erucic acid rapeseed meals on rumen fermentation, digestibility, milk production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94: 4057-4074.

Huhtanen, P. J., Blauwiel, R. & Saastamoinen, I. 1998. Effects of intraruminal infusions on propionate and butyrate with two different protein supplements on milk production and blood metabolites in dairy cows receiving grass silage-based diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77: 213-222.

- Huhtanen, P., Hetta, M. & Swensson, C. 2011. Evaluation of canola meal as a protein supplement for dairy cows: A review and a meta-analysis. *Canadian Journal of Animal Science* 91: 529-543.
- Huhtanen, P., Rinne, M. & Nousiainen, J. 2009. A meta-analysis of feed digestion in dairy cows. 2. The effects of feeding level and diet composition on digestibility. *Journal of Dairy Science* 92: 5031-5042.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J. & Rinne, M. 2006. Recent developments in forage evaluation with special reference to practical applications. *Agricultural and Food Science* 15: 293–323.
- Huida, L., Väättäinen, H. & Lampila, M. 1986. Comparison of dry matter contents in grass silages as determined by oven drying and gas chromatographic water analysis. *Annales Agriculturae Fenniae* 25: 215-230.
- IPCC 2007. *Climate change 2007: the physical science basis*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 996 s.
- IPCC 2013. *Climate change 2013: the physical science basis*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1535 s.
- Johansson, B., Kumm, K-I., Åkerlind, M. & Nadeau, E. 2015. Cold-pressed rapeseed cake or full fat rapeseed to organic dairy cows – milk production and profitability. *Organic Agriculture* 5: 29-38.
- Kairenius, P., Toivonen, V., Ahvenjärvi, S., Vanhatalo, A., Givens, D. I. & Shingfield, K. J. 2009. Effects of rapeseed lipids in the diet on ruminal lipid metabolism and milk fatty acid composition in cows fed grass silage based diets. Teoksessa: Chilliard, Y., Glasser, F., Faulconnier, Y., Bocquier, F., Veissier, I. & Doreau, M. (toim.) *Ruminant physiology: Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare*. XIth International symposium on ruminant physiology. Clermont-Ferrand, Ranska: Wageningen Academic Publishers. s. 232-233.

- Kelly, M. L., Berry, J. R., Dwyer, D. A., Griinari, J. M., Chouinard, P. Y., Van Amburgh, M. E. & Bauman, D. E. 1998. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *The Journal of Nutrition* 128: 881-885.
- Kepler, C. R., Hirons, K. P., McNeill, J. J. & Tove, S. B. 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *The Journal of Biological Chemistry* 241: 1350-1354.
- Kliem, K. E., Humphries, D. J., Grandison, A. S., Morgan, R., Livingstone, K. M., Givens, D. I. & Reynolds, C. K. 2019. Effect of a whey protein and rapeseed oil gel feed supplement on milk fatty acid composition of Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 102: 288-300.
- Kramer, J. K. G., Parodi, P. W., Jensen, R. G., Mossoba, M. M., Yurawecz, M. P. & Adlof, R. O. 1998. Rumenic acid: A proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. Letter to the editor. *AOCS, Your Global Fats & Oils Connection* 33: 835-835.
- Kuhnt, K., Degen, C. & Jahreis, G. 2016. Evaluation of the impact of ruminant *trans* fatty acids on human health: Important aspects to consider. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56: 1964-1980.
- Kuoppala, K. 2017. Rypsirehujen, puna-apilan ja härkäpavun bioaktiiviset yhdisteet. Kirjallisuusselvitys. https://www.proagria.fi/sites/default/files/attachment/rypsin_puna-apilan_ja_harkapavun_bioaktiiviset_aineet_kaisa_kuoppala.pdf. Julkaistu 2017, viitattu 15.5.2019.
- Lamminen, M., Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Kokkonen, T., Jaakkola, S. & Vanhatalo, A. 2019. Different microalgae species as a substitutive protein feed for soya bean meal in grass silage based dairy cow diets. *Animal Feed Science and Technology* 247: 112-126.

- Lock, A. L. & Bauman, D. E. 2011. Milk fat and human health – separating fats from fiction. Proceedings of the 2011 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, October 18-20 2011, New York, USA. s. 126-135.
- Luke. 2018. Rehutaulukot ja ruokintasuositukset. <https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/Rehutaulukot>. Luonnonvarakeskus, Jokioinen. Julkaistu 2018, viitattu 10.2.2020.
- Martin, C., Morgavi, D. P. & Doreau, M. 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal* 4: 351-365.
- Martin, C., Rouel, J., Jouany, J. P., Doreau, M. & Chilliard, Y. 2008. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *Journal of Animal Science* 86: 2642-2650.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta* 17: 297–304.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wilkinson, R. G. 2011. *Animal Nutrition*. 7. painos. Edinburg Gate, England: Pearson. 692 s.
- MMM 1999. Maa- ja metsätalousministeriön päätös tuoreen rehukasvin säilöntäaineista. Päätös no 48/1999. Annettu 22.4.1999. Maa- ja metsätalousministeriön määräyskoelma. Maa- ja metsätalousministeriö, Helsinki.
- Moate, P. J., Williams, S. R. O., Grainger, C., Hannah, M. C. & Ponnampalam, E. N. 2011. Influence of cold-pressed canola, brewers grains and hominy meal as dietary supplements suitable for reducing enteric methane emissions from lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 166-167: 254-264.
- Muñoz, C., Yan, T., Wills, D. A., Murray, S. & Gordon, A. W. 2012. Comparison of the sulfur hexafluoride tracer and respiration chamber techniques for estimating methane emissions and correction for rectum methane output from dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95: 3139-3148.

- Murphy, M., Udén, P., Palmquist, D. L. & Wiktorsson, H. 1987. Rumen and Total Diet Digestibilities in Lactating Cows Fed Containing Full-Fat Rapeseed. *Journal of Dairy Science* 70: 1572-1582.
- Nousiainen, J., Rinne, M., Hellämäki, M. & Huhtanen, P. 2003. Prediction of the digestibility of primary growth and regrowth grass silages from chemical composition, pepsin-cellulase solubility and indigestible cell wall content. *Animal Feed Science and Technology* 110: 61-74.
- Palmquist, D. L. & Jenkins, T. C. 1980. Fat in lactation rations: Review. *Journal of Dairy Science* 63: 1-14.
- Puhakka, L., Jaakkola, S., Simpura, I., Kokkonen, T. & Vanhatalo, A. 2016. Effects of replacing rapeseed meal with fava bean at 2 concentrate crude protein levels on feed intake, nutrient digestion, and milk production in cows fed grass silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 99:7993-8006.
- Regina, K., Lehtonen, H., Palosuo, T. & Ahvenjärvi, S. 2014. Maatalouden kasvihuonekaasupäästöt ja niiden vähentäminen. MTT Raportti 127.
- Rego, O. A., Alves, S. P., Antunes, L. M. S., Rosa, H. J. D., Alfaia, C. F. M., Prates, J. A. M., Cabrita, A. R. J., Fonseca, A. J. M. & Bessa, R. J. B. 2009. Rumen biohydrogenation-derived fatty acids in milk fat from grazing dairy cows supplemented with rapeseed, sunflower, or linseed oils. *Journal of Dairy Science* 92: 4530-4540.
- Reiner, H., Holzner, W. & Ebermann, R. 1995. The development of turnip-type and oilseed-type *Brassica rapa* crops from the wild-type in Europe – an overview of botanical, historical and linguistic facts. Teoksessa: Murphy, D. (toim.) Rapeseed today and tomorrow (Proceedings of the 9th International Rapeseed Congress, July 4–7 1995, Cambridge, UK). Dorchester, UK: Dorset Press. s. 1066-1069.
- Rinne, M. 2020. Valkuaisruokinnan optimointi kotieläintuotannossa. Teoksessa: Puhakainen, T. & Jokela, V. (toim.) Maataloustieteen Päivät 2020. Suomeen Maataloustieteellisen seuran tiedote no 37. Tikkurila: Suomen Maataloustieteellinen seura, s. 46

- Rinne, M., Kuoppala, K., Vanhatalo, A., Huhtamäki, T., Nousiainen, J. & Huhtanen, P. 2017. Finnish feed evaluation system and Feed Tables. Teoksessa Udén, P., Eriksson, T., Spörndly, R., Rustas, B-O., Mogodiniyai Kasmaei, K. & Liljeholm, M. (toim.) Proceedings of the 8th nordic feed science conference, June 13–14 2017, Uppsala, Sweden. Swedish University of Agricultural Sciences (SLU) Report 296: 97-102.
- Ryhänen, E.-L., Tallavaara, K., Griinari, J. M., Jaakkola, S., Mantere-Alhonen, S. & Shingfield, K. J. 2005. Production of conjugated linoleic acid enriched milk and dairy products from cows receiving grass silage supplemented with a cereal-based concentrate containing rapeseed oil. *International Dairy Journal* 15: 207-217.
- Salo, M.-L. 1965. Determination of carbohydrate fractions in animal foods and faeces. *Acta Agraria Fennica* 105: 1-102.
- Sebedio, J.-L., & Ackman, R. G. 1979. Some Minor Fatty Acids of Rapeseed Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 56: 15-21.
- Shingfield, K. J., Bernard, L., Leroux, C. & Chilliard, Y. 2010. Role of *trans* fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4: 1140-1166.
- Shingfield, K. J., Bonnet, M. & Scollan, N. D. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* 7: 132-162.
- Shingfield, K. J., Chilliard, Y., Toivonen, V., Kairenius, P. & Givens, D. I. 2008. Trans Fatty Acids and Bioactive Lipids in Ruminant Milk. Teoksessa: Bösze, Z. (toim.) Bioactive components of milk. New York, US: Springer Publishing Company. s. 3-65.
- Shingfield, K. J. & Griinari, J. M. 2007. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 799-816.
- Shingoethe, D. J. 1996. Balancing the amino acid needs of the dairy cow. *Animal Feed Science Technology* 60: 153-160.

- Sjaunja, L. O., Baevre, L., Junkkarinen, L., Pedersen, J., & Setälä, J. 1990. A Nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. Teoksessa: Gaillon, P. & Chabert, Y. (toim.). Performance Recording of Animals. State of the Art, 1990. PU-DOC, Wageningen, Alankomaat: EAAP Publication 50, s. 156-157.
- Slyter, L. L. 1976. Influence of acidosis on rumen function. *Journal of Animal Science* 43: 910-929.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* 160: 61-68.
- Sousa, D. Z., Salvador, A. F., Ramos, J., Guedes, A. P., Barbosa, S., Stams, A. J. M., Alves, M. M. & Pereira, M. A. 2013. Activity and viability of methanogens in anaerobic digestion of unsaturated and saturated long-chain fatty acids. *Applied and Environmental Microbiology* 79: 4239-4245.
- Steele, W., Noble, R. C. & Moore, J. H. 1971. Effects of 2 methods of incorporating soybean oil into diet on milk yield and composition in cow. *Journal of Dairy Research* 38: 43-48.
- Stefansson, B. R. & Kondra, Z. P. 1975. Tower summer rape. *Canadian Journal of Plant Science* 55: 343-344.
- Tilastokeskus 2019. Suomen kasvihuonekaasupäästöt 1990–2018. http://www.stat.fi/static/media/uploads/tup/khkinv/yymp_kahup_1990-2018_2019_19740_net_p2.pdf
Helsinki: Tilastokeskus. Julkaistu 2019, viitattu 12.9.2019.
- Torre, A. de la, Debiton, E., Durand, D., Chardigny, J-M., Berdeaux, O., Loreau, O., Barthomeuf, C., BAuchart, D. & Gruffat, D. 2005. Conjugated linoleic acid isomers and their conjugated derivatives inhibit growth of human cancer cell lines. *Anticancer Research* 25: 3943-3950.
- Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Toivonen, V. & Varvikko, T. 1999. Response of Dairy Cows Fed Grass Silage Diets to Abomasal Infusions of Histidine Alone or in Combinations with Methionine and Lysine. *Journal of Dairy Science* 82: 2674-2685.

- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583–3597.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2. painos. Ithaca, US: Cornell University Press. 476 s.
- Wallace, R. J., Sasson, G., Garnsworthy, P. C., Tapio, I., Gregson, E., Bani, P., Huhtanen, P., Bayat, A. R., Strozzi, F., Biscarini, F., Snelling, T. J., Saunders, N., Potterton, S. L., Craigon, J., Minuti, A., Trevisi, E., Callegari, M. L., Cappelli, F. P., Cabezas-Garcia, E. H., Vilkki, J., Pinares-Patino, C., Fliegerova, K. O., Mrazek, J., Sechovcova, H., Kopečný, J., Bonin, A., Boyer, F., Taberlet, P., Kokou, F., Halperin, E., Williams, J. L., Shingfield, K. J. & Mizrahi, I. 2019. A heritable subset of the core rumen microbiome dictates dairy cow productivity and emissions. *Science Advances* 5: 12 s.