

Härkäpapusäilörehun tai härkäpavun siemenen vaikutus
lypsylehmän kivennäis- ja hivenaineiden saantiin ja sulavuuteen

Mia Saha

Maisterintutkielma

Helsingin yliopisto

Maataloustieteiden osasto

Kotieläinten ravitsemustiede

Huhtikuu 2019

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/—Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Osasto — Institution — Department Maataloustieteiden osasto	
Tekijä — Författare — Author Mia Sahra			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Härkäpapusäilörehun tai härkäpavun siemenen vaikutus lypsylehmän kivennäis- ja hivenaineiden saantiin ja sulavuuteen			
Oppiaine — Läroämne — Subject Kotieläinten ravitsemustiede			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterintutkielma		Aika — Datum — Month and year 04/2019	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 48 s.
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Kivennäis- ja hivenaineet ovat lypsylehmälle välttämättömiä elintoimintojen ja tuotannon ylläpitoon. Härkäpavun siementä voidaan käyttää valkuaisen lähteenä ja koko kasvustoa säilörehuna, mutta niiden hivenainekoostumusta ei tunneta yhtä hyvin kuin rypsirouheen ja nurmisäilörehun. Tutkimuksessa verrattiin lypsylehmän kivennäis- ja hivenaineiden saantia ja sulavuutta härkäpapusäilörehusta ja härkäpavun siemenestä nurmisäilörehuun ja rypsirouheeseen.</p> <p>Tutkielmassa tarkasteltiin kahta koetta, jotka oli tehty Viikin opetus- ja tutkimustilalla vuosina 2014 ja 2015. Molemmissa kokeissa oli 8 Ayrshire-rotuista lypsylehmää. Kokeet toteutettiin kaksinkertaisina 4x4 latinalaisina neliöinä, joissa oli neljä ruokintaa neljänä kolmen viikon jaksona. Koeasetelmat olivat 2x2 faktoriaalisia. Ensimmäisessä kokeessa faktoreina olivat säilörehun kasvilaji (nurmi tai 1:1 nurmi+härkäpapu-kevätevehnä) ja väkirehun raakavalkuaispitoisuus (175 tai 200 g/kg ka). Toisessa kokeessa faktoreina olivat valkuais täydennys eri lähteistä (rypsirouhe tai härkäpapu), sekä näiden osittainen korvaaminen <i>Spirulina platensis</i> mikrolevällä. Kokeen 2 koeruokinnat olivat isonitrogeenisia valkuaisrehujen suhteen. Kokeessa 2 kaikissa koeruokinnissa oli sama pitoisuus kaupallista kivennäisrehua ja kokeessa 1 kivennäisliisä oli täysrehuissa.</p> <p>Härkäpapusäilörehuseos sisälsi enemmän kivennäisaineita, mutta vähemmän hivenaineita kuin nurmisäilörehu. Härkäpavun siemen sisälsi 70 % enemmän kuparia kuin rypsirouhe.</p> <p>Härkäpapusäilörehuseos lisäsi eri kivennäisaineiden saantia 1-6 %, mutta vähensi hivenaineiden, kuten raudan ja mangaanin saantia 5-7 % verrattuna nurmisäilörehuun. Härkäpavun siemen lisäsi kuparin saantia 9 %, mutta pienensi magnesiumin, rikin, raudan, mangaanin ja seleenin saanteja 2-14 % verrattuna rypsirouheeseen.</p> <p>Härkäpavun lisääminen ruokintaan kokoviljasäilörehuna tai kokonaisena siemenenä ei vaikuttanut kivennäis- tai hivenaineiden sulavuuteen.</p> <p>Härkäpapusäilörehu tai härkäpavun siemen eivät eronneet merkittävästi nurmirehusta tai rypsiä hivenaineiden lähteinä. Härkäpapu ei sisältänyt mitään kivennäis- tai hivenainetta haitallisen suurta tai hälyttävän pientä määrää.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Hivenaine, magnesium, rikki, kupari, rauta, mangaani, seleeni, lypsylehmä, härkäpapu, härkäpapusäilörehu			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — deposited deposited Maataloustieteiden osasto, Viikin kampus			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Työn ohjasivat tohtorikoulutettava Marjukka Lamminen ja yliopistonlehtori Seija Jaakkola			

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/—Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Osasto — Institution — Department Department of Agricultural Sciences	
Tekijä — Författare — Author Mia Sahra			
Työn nimi — Arbetets titel — Title The effect of faba bean silage or faba bean seeds on minerals and trace minerals intake and digestibility in dairy cows			
Oppiaine — Läroämne — Subject Animal nutrition			
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis		Aika — Datum — Month and year 04/2019	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 48 p.
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Minerals and trace minerals are essential for animal maintenance and production. In dairy cow diets, faba bean seeds can be used as protein feeds or whole faba bean as whole-crop silage. However, mineral and trace mineral content of faba bean is not known as well as the mineral content of grass silage or rapeseed meal.</p> <p>This study consists of two experiments conducted at the research farm of University of Helsinki in 2014 and 2015. In both experiments there were 8 Ayrshire dairy cows. The experiment design was replicated 4x4 Latin square with four diets in four three-week periods. The experimental diets were 2x2 factorially arranged. In the first experiment, factors were silage plant species (grass silage or 1:1 mixture of grass silage and faba bean-spring wheat silage) and two levels of rape seed meal resulting in two crude protein contents of concentrate (175 or 200 g/kg DM). In the second experiment, the factors were protein supplementation from various sources (rapeseed meal or rolled faba bean seeds) and partial replacement of these with <i>Spirulina platensis</i>. In experiment 2, diets were isonitrogenous in regards N supply from protein feeds. Mineral supplement was included in the concentrate in the experiment 1. In experiment 2, equal proportion of same commercial mineral supplement was included in each experimental total mixed ration.</p> <p>Faba bean silage contained more macro minerals, but less trace minerals than grass silage. Inclusion of faba bean silage in the diet decreased intake of iron, manganese and selenium. Faba bean seed contained 70 % more copper than rapeseed meal. Faba bean seed increased intake of copper (9 %), but decreased intake of magnesium, sulfur, iron, manganese and selenium (2-14 %) compared to rape seed meal.</p> <p>Faba bean silage or seeds did not significantly affect the digestibility of the macro minerals or trace minerals. As a source of macro and trace minerals faba bean silage and rolled faba bean seeds are similar to grass silage and rapeseed meal. Faba bean did not contain excessively low or high amounts of any trace minerals.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords trace mineral, magnesium, sulfur, copper, iron, manganese, selenium, dairy cow, faba bean, faba bean silage			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — deposited deposited Department of Agricultural Sciences			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Supervisors PhD student Marjukka Lamminen and university lecturer Seija Jaakkola			

Sisällys

1. Johdanto.....	5
2. Lypsylehmän kivennäis- ja hivenaineiden tarve ja saanti.....	6
2.1. Magnesium.....	8
2.2. Rikki.....	9
2.3. Kupari.....	11
2.4. Rauta.....	12
2.5. Mangaani.....	12
2.6. Seleenii.....	13
2.7. Yhdysvaikutukset.....	14
3. Tavoitteet ja hypoteesit.....	16
4. Aineisto ja menetelmät.....	17
4.1. Kokeet.....	17
4.2. Eläimet ja rehut.....	17
4.3. Näytteet.....	19
4.4. Näytteiden analysointi.....	20
4.5. Tulosten laskenta.....	21
5. Tulokset.....	23
5.1. Maitotuotos, sekä kuiva-aineen ja orgaanisen aineen saanti ja sulavuus.....	23
5.2. Rehujen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet.....	25
5.3. Dieettien kivennäis- ja hivenainepitoisuudet.....	26
5.4. Dieettien kivennäis- ja hivenaineiden saanti.....	28
5.5. Kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuudet sonnassa.....	30
5.6. Kivennäis- ja hivenaineiden sulavuudet.....	32
6. Tulosten tarkastelu.....	34
6.1. Rehujen ja ruokintojen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet.....	34
6.2. Kivennäis- ja hivenaineiden saanti.....	36
6.3. Kivennäis- ja hivenaineiden sulavuudet.....	38
7. Johtopäätökset.....	40
Lähteet.....	42
Liitteet.....	47
Liite 1 ICP analyysissä käytetyt alkuainestandardit ja aallonpituudet.....	47

1. Johdanto

Kivennäis- ja hivenaineet ovat pieni, mutta välttämätön osa lypsylehmän ruokintaa (McDonald ym. 2011). Härkäpapu on Suomessa tunnettu karjan rehuna jo 1900-luvun alussa (Nylander ja Cajander 1901), mutta laajamittainen kiinnostus sen rehukäyttöön tuotantoeläinten rehuna on herännyt vasta 2000-luvun puolella, kun huoli valkuaisomavaraisuudesta ja ympäristön kannalta kestävästä valkuaisrehuista on noussut keskeiseksi teemaksi. Härkäpavun kivennäis- ja hivenainekoostumuksesta ja kivennäis- ja hivenaineiden sulavuudesta ei ole olemassa vielä yhtä kattavasti tietoa kuin nurmisäilörehujen ja rypsirouheen pitoisuuksista ja sulavuuksista.

Härkäpapusäilörehulla voidaan korvata nurmirehua lypsylehmän ruokinnassa ilman että maitotuotos pienenee, mutta väkirehun rypsin korvaajaksi härkäpapusäilörehusta tai härkäpavun siemenestä ei täysin ole (Palmio ym. 2016, Puhakka ym. 2016). Härkäpavun sisältämien kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuus riippuu peltomaasta saatavilla olevien mineraalien määrästä ja kasvin kivennäis- ja hivenaineiden otosta. Härkäpapusäilörehu sisältää kotimaisten rehutaulukoiden mukaan nurmisäilörehuun verrattavat pitoisuudet kivennäis- ja hivenaineita, mutta rypsirouheeseen verrattuna härkäpavun siemen sisältää vain vähän kivennäis- ja hivenaineita (Luke 2019).

Lypsylehmien tärkein kivennäis- ja hivenaineiden lähde on kaupallinen kivennäisvalmiste joko erillisenä kivennäisrehuna tai osana täysrehua. Kivennäisvalmisteet on suunniteltu täydentämään käytetyimpiä ruokinnan komponentteja, kuten nurmirehua ja kotoista viljaa. Uudet rehuksvit voivat poiketa kivennäiskoostumukseltaan vanhoista tutuista rehuista, jolloin vanhojen rehujen täydennykseksi suunniteltu kivennäisrehu ei välttämättä riitä vastaamaan eläimen tarpeisiin tai jotakin kivennäisainetta onkin ruokinnassa jo liikaa. Tämän takia on syytä selvittää miten härkäpavun sisällyttäminen ruokintaan joko säilörehuna tai siemenenä vaikuttaa lypsylehmän kivennäis- ja hivenaineiden saantiin ja sulavuuteen.

2. Lypsylehmän kivennäis- ja hivenaineiden tarve ja saanti

Märehtijälle välttämättömät mineraalit jaetaan kivennäis- ja hivenaineisiin niiden tarpeen tai kehon pitoisuuden perusteella (McDonald ym. 2011). Hivenaineiden tarve on normaalisti alle 100 mg/kg rehusta ja niiden pitoisuus kehossa on alle 50 mg/kg. Mineraali lasketaan kivennäisaineeksi, jos sen tarve on normaalisti yli 100 mg/kg rehusta ja pitoisuus kehossa yli 50 mg/kg. Kivennäisaineita ovat kalsium, fosfori, magnesium, natrium, kalium, kloori ja rikki. Hivenaineita, joilla on merkitystä elimistön toimintaan, tunnetaan noin 30 erilaista. Merkittävimpiä niistä ovat rauta, kupari, jodi, mangaani, sinkki, koboltti, molybdeeni, seleeni, kromi ja fluori.

Märehtijä tarvitsee kivennäis- ja hivenaineita rakennusaineeksi erilaisten yhdisteiden muodostamiseen, kehon reaktioiden välittäjäaineiksi, sekä katalysaattoreiksi esimerkiksi entsyymitoiminnassa (McDonald ym. 2011). Lypsylehmän kivennäisaineiden tarve riippuu tuotostasosta (Taulukko 1). Hivenaineiden tarvetta ei osata yhtä täsmällisesti määrittää tuotoksen mukaan, mutta eläimen ikä ja ruokinta vaikuttavat hivenaineiden tarpeeseen (Taulukko 2). Taulukoissa 1 ja 2 on esitetty suomalaisten ruokintasuositusten mukaiset kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuudet. Ruokintasuositukset vaihtelevat hieman eri maiden välillä (Stamm 2016).

Taulukko 1 Lypsylehmän kivennäisaineiden tarve (Luke 2019)

Tuotos	Kalsium	Fosfori	Mg sisär.	Mg laidun ³	Natrium	Kalium
kg			g/pv			
0	40 ¹	21 ²	14	18	12	68
10	48	28	16	21	17	80
20	76	48	23	30	24	95
30	104	67	29	39	31	109
40	132	87	36	47	38	123
50	160	106	43	56	45	138
60	188	126	49	65	52	152

¹ Tiineille hiehoille 10 % lisää 8. ja 9. tiineyskuukauden aikana

² Vastaa 9. tiineyskuukauden tarvetta

³ Laidunhalvauksen estämiseksi voidaan 3-4 ensimmäisen laidunviikon aikana antaa ylimääräinen Mg-lisä (20-30 g/pv)

Taulukko 2 Naudan hivenaineiden tarve ja maksimisaanti rehusta ((EY) N:o 1334/2003, Luke 2019)

	Fe	Cu	Zn	Mn	I	Co	Se	Mo
	mg/kg ka							
Pikkuvasikat	100 ¹	10	50 ²	40	0,1 ⁴	⁵	0,1	0,3
Nuorkarja	100	10	50	40	0,2 ⁴	0,1	0,1	0,3
Lypsylehmät	100	10	50	40 ³	0,9 ⁴	0,1	0,1	0,3
EU:n enimmäisraja lypsylehmälle	750	35	150	150	5	2	0,5 0,2 ⁶	2,5
mg/kg kosteus 12 %								

¹ Eläintä kohti mg/pv

² Laiduntaville vasikoille 80 mg/kg ka

³ Kolmen ensimmäisen laktatiokuukauden aikana 80 mg/kg ka

⁴ Goitrogeeneja sisältävillä rehuilla 1,3, 1,2 ja 2,0 mg/kg ka

⁵ Juottokautena 40 mikrogrammaa B12-vitamiinia/kg rehun ka

⁶ selenometioniinia saa lisätä vain 0,2 mg/kg ((EU) N:o 121/2014)

Hivenaineet ovat liian suurina pitoisuuksina myrkyllisiä eläimelle (McDonald ym. 2011). Kupari, seleeni ja molybdeeni ovat myrkyllisiä jo pieninä pitoisuuksina. Mangaani on hivenaineista vähiten myrkyllinen ja sitä nauta sietää jopa 1000 mg/kg ka ilman myrkytysoireita ja sinkkiäkin 250 mg/kg ka (Jarrige 1989). EU-lainsäädäntö rajoittaa hivenaineruokintaa määrittämällä maksimitasot rehujen hivenainepitoisuudelle (Taulukko 2).

Rikki on pääasiassa aminohappojen ja vitamiinien rakenneosa (NRC 2005). Sen tarvetta ei kerrota kivennäisainetaulukoissa, vaan puhutaan suoraan rikki-pitoisten orgaanisten yhdisteiden, kuten metioniinin tai biotiinin tarpeesta. Rikille ei myöskään osoiteta suoria puutosoireita (Taulukko 3), vaan rikin puute ilmenee riittämättömänä valkuaisen tai vitamiinien saantina (NRC 2005).

Kivennäis- ja hivenaineiden puutos aiheuttaa eläimelle erilaisia fysiologisia oireita (Taulukko 3). Lieviä oireita voi olla vaikea kohdistaa tietyn kivennäis- tai hivenaineen puutteeksi, mutta osa oireista on selkeitä. Esimerkiksi laidunhalvaus on hyvin usein oire magnesiumin puutteesta ja vasikoiden selkälihasrappeuma seleenin tai E-vitamiinin puutteesta (NRC 2005). Kuparin puute vaikuttaa hyvin laajasti eläimen hyvinvointiin, mutta erityisesti karvan pigmentaatiohäiriöt ja sydänvaivat viittaavat kuparin puutteeseen. Raudan puutetta esiintyy hyvin harvoin aikuisella eläimellä, mutta vasikoilla sitä esiintyy anemiana ja huonona kasvuna.

Taulukko 3 Hivenaineiden puutosoireita märehijöillä (Jarrige 1989, NRC 2005))

	Magnesium		Rikki		Kupari		Rauta		Mangaani		Seleeni	
	A	N	A	N	A	N	A	N	A	N	A	N
Kasvu hidastuu	•	•			•	•		•	•	•		
Maitotuotos alenee					•				•			
Ruokahalu laskee	•	•			•	•		•				
Heikkous					•	•						
Huono immuunivaste					•	•		•				
Anemia					•	•		•				
Ataksia						•						
Virheasentoja	X	X			•	•			•	•		
Spontaaneja murtumia					•	•						
Raajarikkoisuus	•	•			•	•			•	•		•
Sydänvaivoja					X	X						•
Hengenahdistus					•	•						•
Ripuli					•							
Värittömiä karvoja					X	X						
Epätasainen karvapeite					•	•						
Ihotulehdus									•	•		
Struuma											•	
Hedelmättömyys	•				•							
Lihasrapppeuma												X
Halvaus	X											

A= aikuisella eläimellä, N= nuorella eläimellä, X= merkittävä oire

2.1. Magnesium

Magnesium on tärkeä kofaktori elimistön entsyymireaktioissa (NRC 2005). Magnesium on olennainen osa hermoston, lihasten ja luiden normaalia toimintaa (Goff 2018) ja se osallistuu esimerkiksi fosforin siirtämiseen ATP, ADP ja AMP molekyylien välillä (NRC 2005).

Aikuisilla märehijöillä magnesium imeytyy pääasiassa etumahoissa (NRC 2005, Goff 2018). Nuorilla eläimillä, joilla pöstitoiminta ei ole vielä käynnistynyt, magnesium imeytyy ohutsuoletta. Magnesium kuljetetaan pötsin seinämän läpi magnesiumkanavien tai $Mg^{2+}/2Cl^{-}$ kontrasportterien avulla (Goff 2018). Magnesiumkanavat toimivat silloin, kun magnesiumin pitoisuus pötsinesteessä on pieni ja kontrasportterit pitoisuuden ollessa suuri. Kaliumin kuljetus pötsin seinämän läpi

heikentää magnesiumkanavien toimintaa, mutta ei vaikuta kontrasportterien toimintaan. Lisäksi proteiinit ja orgaaniset hapot heikentävät magnesiumin kuljetusta (NRC 2005).

Rehun magnesiumista imeytyy noin 24 %, kun rehun kaliumpitoisuus on 1 %, mutta kaliumpitoisuuden noustessa magnesiumin imeytyminen pienenee (Weiss 2004). Lypsylehmän magnesiumin tarve riippuu maitotuotoksesta ja laiduntamisesta. 40 kg lypsävä lehmä tarvitsee magnesiumia 36 g/pv sisäruokintakaudella ja laiduntava lehmä 47 g/pv (Luke 2019). Laidunkauden alussa voidaan antaa 20-30 g/pv ylimääräinen magnesiumlisä laidunhalvauksen estämiseksi.

Akuutti magnesiumin puute aiheuttaa lypsylehmälle laidunhalvauksen (Pyörälä ja Tiihonen 2005). Suurin osa magnesiumista on varastoitunut luihin, joista se ei ole nopeasti mobilisoitavissa lehmän käyttöön. Lehmä tarvitsee jatkuvasti magnesiumia aineenvaihduntaan ja maidontuotantoon. Magnesiumin pitoisuus veressä riippuu lähes kokonaan magnesiumin päivittäisestä saannista rehusta (Goff 2018). Nurmilaitumessa on vähän magnesiumia (1,7-1,8 g/kg ka, (Luke 2019)) ja paljon magnesiumin imeytymistä heikentäviä kaliumia (30-31 g/kg ka, (Luke 2019)) ja helppoliukoista valkuaista (Pyörälä ja Tiihonen 2005). Nurmilaitumen magnesiumipitoisuus suurenee kasvukauden edetessä (Wyss ym. 2018), joten suurin riski sairastua laidunhalvaukseen on laidunkauden alussa.

Tyypillinen oire pitkittyneestä magnesiumin puutteesta on nivelten hyperekstensio, eli yliojentuminen (NRC 2005). Magnesiumin puutos voidaan havaita verestä tai virtsasta. Normaali veren magnesiumipitoisuus naudalla on 1,9–2,4 mg/dl (Goff 2018).

Magnesiumin liikasaanti ei ole tyypillistä eläimillä (NRC 2005). Pistoksena magnesiumia voi antaa liikaa, mutta rehusta magnesiumia ei imeydy vaarallisia pitoisuuksia. Munuaiset sitovat tehokkaasti magnesiumia verenkierrosta ja erittävät sitä virtsan mukana ulos kehosta. Munuaisten toimintahäiriöt lisäävät magnesiumimyrkytyksen riskiä, jos magnesiumia on rehussa suuria määriä. Märehtijöillä liian suuri magnesiumipitoisuus rehussa tai juomavedessä voi aiheuttaa osmoottista ripulia, vaikka magnesium ei imeydy suolistosta verenkiertoon.

2.2. Rikki

Rikki on rikkipitoisten aminohappojen, kuten metioniinin ja kysteiinin, sekä B-vitamiinien tiamiinin ja biotiinin rakennusosa (Goff 2018). Nauta ei pysty itse muodostamaan metioniinia, tiamiinia, eikä biotiinia soluissaan, mutta märehtijän pötsimikrobit pystyvät syntetisoimaan metioniinia pötsissä ja

kysteiniä märehtijä saa metioniinista (NRC 2005). Pötsimikrobien metioniinintuotanto riittää pääsääntöisesti kattamaan märehtijän tarpeet, mutta metioniini on ensimmäisiä maidontuotantoa rajoittavia aminohappoja (Schwab ym. 1992). Liiallinen metioniinin saanti on kuitenkin haitallista naudalle (NRC 2005). Pienissä määrin (15 %) epäorgaanisella rikkisuolalla voidaan korvata kysteiniin saantia rehussa. Rikkipitoisten aminohappojen hajotus pötsissä tuottaa sulfaatteja verenkiertoon, mitkä vaikuttavat kehon happo-emäs-tasapainoon (Goff 2018). Lisäksi rikkiä tarvitaan hepariinin, eli veren hyytymistä estävän yhdisteen muodostamiseen, sekä maksassa detoksikaatio- ja eliminaatioreaktioihin.

Kupari-, mangaani, rauta- ja sinkkikationeja voidaan lisätä rehuun sulfaattisuoloina (SO_4^{2-}). Sulfaattisuolat ovat vesiliukoisia ja sen takia helposti imeytyvässä muodossa (NRC 2005). Sulfaatti imeytyy ohutsuolesta melko tehokkaasti (60 %) (Goff 2018).

Rikin myrkyllisyys riippuu sen sitoutumismuodosta (NRC 2005). Myrkyllistä sulfidia S^{2-} muodostuu pötsissä pötsimikrobien työn tuloksena, kun epäorgaaniset rikkiyhdisteet hajoavat, alkuainerikki hapettuu tai rikkipitoiset aminohapot hajoavat (Spears ym. 2011). Rikkivety (H_2S) on hyvin myrkyllinen kaasumainen sulfidiyhdiste, jota muodostuu pötsissä erityisesti tärkkelyspitoisella dieetillä (NRC 2005). Hapan pötsi lisää rikkiyhdisteiden myrkyllisyyttä. Naudalla myrkytysoireita ovat vetinen ripuli, hermostolliset oireet kuten ataksia tai sokeus, sekä lopulta kuolema. Liiallinen rikki aiheuttaa pötsissä tiamiinin (B1-vitamiini) pilkkoutumista (NRC 2005). Tiamiinia nauta tarvitsee sokeriaineenvaihduntaansa. Polioencephalomalacia (PEM) on rikin liikasaannista johtuva hermostosairaus, johon liittyy usein tiamiinin puutosta.

Isotiosyanaatti on rikkiyhdiste, joka häiritsee tyroksiinin, eli kilpirauhashormonin tuotantoa kilpirauhasessa aiheuttaen kilpirauhasen vajaatoimintaa tai struuman (NRC 2005). Isotiosyanaattia on *Brassica*-suvun kasveissa, kuten kaalissa, rypissä ja rapsissa.

Rikin sietokyky riippuu märehtijöillä dieetin väkirehupitoisuudesta (Spears ym. 2011). Mitä enemmän rehussa on väkirehua, sitä aikaisemmin rikin myrkytysoireita esiintyy. Väkihehuprosentin ollessa alle 60 %, nauta sietää rehussa 0,5 % rikkiä (NRC 2005).

2.3. Kupari

Kupari on välttämätön hivenaine, jonka kyky vaihtaa hapetuslukua Cu^+ ja Cu^{2+} välillä tekee siitä tärkeän entsyymien rakenneosan (Goff 2018). Kupari osallistuu hemoglobiinin muodostumiseen, energiametaboliaan, antioksidanttitoimintaan, kollageenin pysyvyyteen ja pigmentaatioon entsyymien rakenneosana (NRC 2005).

Kupari imeytyy ohutsuolesta ja sen sulavuus aikuisella märehijällä vaihtelee $<1,0 - 10 \%$ välillä (Suttle 2010). Aikuisella märehijällä pötsin toiminta heikentää kuparin imeytymistä merkittävästi, koska molybdeeni, rikki ja kupari muodostavat imeytymättömän thiomolybdaatti-kompleksin pötsissä. Kuparin tarve on 4-20 mg/kg riippuen rikin ja molybdeenin määrästä rehussa (NRC 2005). Suomalainen ruokintasuositus ohjeistaa antamaan kuparia 10 mg/pv lypsylehmälle ja nuorkarjalle (Luke 2019). Nuorella märehijällä, jolla pötsi ei ole vielä toiminnassa, kuparin sulavuus voi olla jopa 75 % ja nuori märehijä on siksi herkempi kuparin liikasaannille ja myrkytykselle (NRC 2005).

Kupari varastoituu maksaan metallotioniininä (NRC 2005). Lammas on herkkä kuparin liikasaannille, koska se ei pysty tehokkaasti erittämään kuparia sapen kautta ulos kehosta. Kuparin sietokyky vaihtelee myös lajien sisällä eri rotujen välillä (NRC 2005). Maitoroduista Jersey sietää Holsteinia huomattavasti enemmän kuparia, koska se varastoi kuparia tehokkaammin maksaan pois verenkierrosta (Du ym. 1996). Kupari vapautuu maksasta tarpeen mukaan verenkiertoon (Weiss 2004). Stressi, infektio tai tulehdus voivat lisätä äkillisesti kuparin vapautumista.

Liiallinen kupari soluissa aiheuttaa hapettumistuhoja, kun vapaa kupari sitoo proteiineja ja nukleiinihappoja (NRC 2005). Akuutin kuparimyrkytyksen oireita ovat huonovointisuus, ripuli, lisääntynyt syljeneritys, kouristukset, halvaus ja lopulta kuolema. Pitkittynyt kuparimyrkytys aiheuttaa anoreksiaa, heikkoutta, keltatautia limakalvoilla, ylenpalttista janontunnetta, tummaa virtsaa ja silmien painumista kuopalle (Perrin ym. 1990). Pitkittynyt kuparimyrkytys vaurioittaa maksaa ja voi aiheuttaa kuoleman (NRC 2005). Kupari kertyy maksaan, joten saadun kupariannoksen lisäksi altistus aika vaikuttaa myrkytystilan kehittymiseen. Kuparin liikasaantia voidaan ehkäistä molybdeeni- ja rikkilisällä rehussa. Pieni molybdeenipitoisuus rehussa altistaa kuparimyrkytykselle (Perrin ym. 1990).

Kupari on dieetissä epäorgaanisena kuparisulfaattina tai orgaanisena kupariproteiinaattina. Sitoutumismuoto ei vaikuta kuparin imeytymistehokkuuteen, jos dieetissä on vain vähän molybdeeniä (Du ym. 1996), mutta runsasmolybdeenisellä dieetillä orgaaninen kupari imeytyy

epäorgaanista paremmin (Ward ym. 1996). Orgaaninen kupari on epäorgaanista paremmin suojattu imeytymättömän Cu-Mo-S-kompleksin muodostumiselta pötsissä.

2.4. Rauta

Rauta osallistuu hemoglobiini muodostukseen ja toimii entsyymien kofaktorina energiametaboliaan ja lämmönsäätelyyn liittyvissä reaktioissa. Raudalla on tärkeä tehtävä entsyymien osana esimerkiksi sitruunahappokierrossa (NRC 2005).

Rauta imeytyy ohutsuolesta. Rehun raudasta imeytyy 2-20 % (NRC 2005). Imeytymisteho riippuu eläimen iästä, fysiologisesta tilasta, raudan tarpeesta, suoliston kunnosta, raudan kemiallisesta sitoutumisesta, sekä muusta dieetistä. Myös rotu vaikuttaa raudan imeytymiseen (Du ym. 1996). Nuorilla, tiineillä ja maitoa tuottavilla eläimillä imeytyminen on tehokkainta (NRC 2005). Fytiinihappo, maitoproteiinit sekä soijaproteiini heikentävät raudan imeytymistä. Fytiinihappoa on runsaasti palkokasveissa ja viljassa. Myös muut kivennäis- ja hivenaineet, kuten kalsium, sinkki, kupari, fosfori, mangaani, koboltti, nikkeli ja kadmium heikentävät raudan imeytymistä. Raudan puutos on harvinainen aikuisella naudalla, mutta maitovasikoilla puutosta voi esiintyä (Goff 2018).

Raudan liikasaanti on vaarallista ja se haittaa erityisesti mitokondrioiden toimintaa (NRC 2005). Rautamyrkytyksen oireet näkyvät erityisesti maksassa, sydämessä ja haimassa, koska niissä on suuri mitokondrio-aktiivisuus. Rautamyrkytys ei ole tavanomaista eläimillä, koska raudan imeytyminen heikkenee, kun rautaa on paljon saatavilla ja eläimen lisäraudan tarve pienenee. Liian suuri kerta-annos esimerkiksi pistoksena voi kuitenkin olla eläimelle kuolettava. Naudoilla rautaa saa olla rehussa 500 mg/kg, jos rauta on hyvin liukenevassa ja imeytyvässä muodossa. Suomessa raudan saantisuositus pikkivasikoille on 100 mg/pv ja nuorille ja aikuisille eläimille 100 mg/kg ka rehussa (Luke 2019).

2.5. Mangaani

Mangaani on tärkeässä roolissa antioksidantti superoksididismutaasin rakenneosana erityisesti mitokondrioissa (Suttle 2010, Goff 2018). Mangaanin tarve lypsylehmällä on 40 mg/kg ka rehua, paitsi korkeatuottoisilla lehmillä kolme ensimmäistä laktaatiokuukautta 80 mg/kg ka (NRC 2005, Luke 2019).

Rehun mangaanista imeytyy <1-20 % (Suttle 2010, Goff 2018). Mangaanin imeytyminen riippuu ruokinnan ja pötsinesteen mangaani-pitoisuudesta (Goff 2018). Mangaani imeytyy eri mekanismeilla eri pitoisuuksissa. Rauta, kalsium, fosfori, fytiinihappo ja aminohapot heikentävät mangaanin imeytymistä (NRC 2005). Orgaaninen mangaanimetioniini imeytyy epäorgaanista paremmin märehitijöillä. Mangaani erittyy pois kehosta sappinesteen mukana.

Mangaani on vähiten myrkyllinen välttämätön hivenaine, mutta sen liikasaanti on haitallista sen häiritessä muiden hivenaineiden imeytymistä tai toimintaa kehossa (NRC 2005). Mangaani häiritsee raudan toimintaa hemoglobiinin osana ja aiheuttaa välillisesti anemiaa. Runsaasti rautaa sisältävällä dieetillä eläin kestää myös suurempia mangaanipitoisuuksia rehussa.

2.6. Seeleni

Seeleni on välttämätön hivenaine, jota tarvitaan monien tärkeiden entsyymien rakennusosana (NRC 2005). Seeleni osallistuu immuunipuolustukseen, aktiivisen kilpirauhashormonin muodostumiseen, sekä suojaa kehoa happiradikaaleilta. Seeleni ja E-vitamiini toimivat pitkälti samoissa tehtävissä immuunipuolustuksessa ja voivat osittain korvata toisiaan (Goff 2018). Seeleni osallistuu dejodinaasi-entsyymien toimintaan aktiivisen kilpirauhashormonin muodostuksessa. Seleenin puutos voi ilmetä kilpirauhashormonin vajaatoimintana ja struumana, vaikka kyseiset oireet liitetään usein jodin puutokseen. Seeleni on tärkeä hivenaine ihon hyvinvoinnin kannalta. Seeleni suojaa papillomatoosilta, eli papilloma-viruksen aiheuttamilta syyliä (Arslan ym. 2018). Lisäksi on löydetty viitteitä, että seeleni suojaa ihosyövältä.

Seeleni imeytyy ohutsuolesta epäorgaanisena selenaatina (SeO_4^{2-}) tai orgaanisena selenometioniinina (NRC 2005). Märehitijöillä vain noin 34 % epäorgaanisesta seleenistä imeytyy ruuansulatuskanavasta (Spears 2003). Tämä johtuu pötsimikrobien taipumuksesta muokata imeytyvä selenaatit imeytymättömäksi alkuaineseleeniksi tai selenideiksi. Orgaaninen seeleni on paremmin turvassa pötsimikrobien vaikutukselta kuin epäorgaaninen ja siitä suurempi osa selviää muuttumattomana pötsin läpi ohutsuoleen (Knowles ym. 1999).

Seeleni voi sitoutua orgaaniseen muotoon seleeniproteiiniksi korvaamalla rikin rikkipitoisista aminohapoista (metioniini, kysteiini) tai dipeptideistä (kystiini). Selenometioniini imeytyy samoja reittejä pitkin, kuin rikkipitoinen metioniini, eikä niiden imeytymistehokkuudessa ole merkittävää eroa (Nickel ym. 2009). Selenokystiini sen sijaan imeytyy heikommin kuin kystiini.

Selenometioniinia tuotetaan rehukäyttöön hiivan avulla (Goff 2018). Seleenihiiva saadaan aikaan tarjoamalla kasvavalle hiivalle epäorgaanista seleeniä, minkä hiiva hyödyntää omaan proteiinituotantonsa ja muodostaa selenometioniinia. Seleenihiivasta noin 60 % on selenometioniinia (Weiss 2005). Puhtaan selenometioniinin sulavuus on lähes 80 %, mutta seleenihiivassa seleenin sulavuus on noin 66 %. Sulavuus on kuitenkin korkeampi, kuin epäorgaanisen seleenin.

Paras sulavuus seleenille saadaan, kun seleeni on sitoutunut nurmirehuun (Séboussi ym. 2016). Nurmeen sitoutunut seleeni viipyy pidempään pötsissä, kuin hienojakoiseen kivennäisrehuun tai väkirehuun sitoutunut seleeni. Lisäksi hyvin sulavan nurmirehun solunseinämähiilihydraatit ovat helpommin pötsimikrobien hajotettavissa, kuin seleenipitoisen hiivan soluseinämät. Knowles ym. (1999) totesivat seleenihiivan olevan tehokkaampi nostamaan lehmän seleenistatusta ja maidon seleenipitoisuutta kuin epäorgaanisen selenaanin, mutta Séboussi ym. (2016) eivät löytäneet merkitseviä eroja epäorgaanisen ja orgaanisen seleenin imeytymisestä.

2.7. Yhdysvaikutukset

Kivennäis- ja hivenaineiden imeytymiseen vaikuttaa paitsi alkuaineen omat ominaisuudet, myös muut rehun komponentit (NRC 2005). Toiset kivennäisaineet tai erilaiset orgaaniset yhdisteet kuten proteiinit tai hapot heikentävät kivennäis- ja hivenaineiden imeytymistä naudan ruuansulatuskanavassa (Taulukko 4).

Magnesiumin imeytymistä pötsissä heikentävät erityisesti kalium ja orgaanisista yhdisteistä proteiinit ja orgaaniset hapot. Kalium heikentää magnesiumin imeytymistä pötsin seinämistä verenkiertoon, kun magnesiumin pitoisuus pötsinesteessä on pieni (Goff 2018). Korkea kaliumpitoisuus rehussa voidaan kompensoida riittävän korkealla magnesiumpitoisuudella, jolloin magnesium imeytyy pääasiassa kaliumista riippumattomien $Mg^{2+} / 2Cl^{-}$ kontrasportterien kautta. Magnesiumin imeytymistä häiritsevät myös mangaani ja kalsium (NRC 2005, Goff 2018). Magnesium puolestaan heikentää monien haitallisten metallien, kuten alumiinin imeytymistä elimistöön (NRC 2005). Riittävä magnesiumtaso ruokinnassa voi suojata muiden metallien liikasaannilta.

Kuparin imeytymistä heikentävät erityisesti rikki ja molybdeeni, jotka muodostavat pötsissä imeytymättömän kupari thiomolybdaatti-yhdisteen (Spears 2003). Riittävä kupari-molybdaatti – suhde rehussa on 2,0, jotta turvataan riittävä kuparin saanti (Miltimore ym. 1971). Spears ym. (2003)

kuitenkin toteavat, ettei molybdeeni yksin riitä heikentämään kupari imeytymistä, jos rikkiä ei ole riittävästi saatavilla thiomlybdaatti-kompleksin muodostamiseen. Rikki heikentää kuparin saatavuutta myös yksinään ilman molybdeenin kanssa muodostettua kompleksia (Spears 2003). Suurina pitoisuuksina rauta ja sinkki, sekä mangaani heikentävät kuparin imeytymistä (NRC 2005, Goff 2018).

Raudan imeytymistä häiritsevät erityisesti fytiinihappo ja proteiinit, mutta myös lukuisa joukko kivennäis- ja hivenaineita (Taulukko 4). Mangaanin imeytymisen tiedetään häiriintyvän fytiinihaposta, orgaanisista hapoista, sekä muutamista hivenaineista, kuten raudasta ja kuparista (NRC 2005).

Runsas rikin saanti heikentää seleenin imeytymistä (Knowles ym. 1999, Hartman ym. 2018). Seleeni ja rikki ovat alkuaineina hyvin samankaltaisia ja molemmat voivat toimia metioniinin rakenneosana (Nickel ym. 2009). Rikkipitoinen metioniini ja selenometioniini imeytyvät samoja reittejä pitkin ohutsuolesta ja häiritsevät siksi toistensa imeytymistä. Rikki ja molybdeeni heikentävät myös epäorgaanisen seleenin imeytymistä, koska selenaaatti, sulfaatti ja molybdaatti imeytyvät ohutsuolesta samoja aktiivisia siirtäjäkanavia pitkin (Suttle 2010). Pötsimikrobien toiminta heikentää seleenin imeytymistä, koska mikrobit muokkaavat imeytyvää selenaaattia huonosti imeytyviksi seleniitiksi tai alkuaineseleeniksi. Rikkipitoiset syanogeeniset glukosinolaatit, joita on paljon palkokasveissa, heikentävät märehitjän seleenistatusta, mutta Spears ym. (2003) eivät osanneet nimetä tälle yksiselitteistä syytä.

Taulukko 4 Kivennäis- ja hivenaineiden imeytymistä heikentävät tekijät märehitjän ruuansulatuskanavassa (NRC 2005, Suttle 2010, Goff 2018)

	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Se
magnesium	-					
rikki		-	•			•
kupari			-	•	•	
rauta			•	-	•	
mangaani	•		•	•	-	
seleeni		•				-
kalsium	•			•	•	
molybdeeni			•			•
sinkki			•	•	•	
fosfori				•	•	
koboltti				•	•	
nikkeli				•		
kadmium				•		
kalium	•					
aminohapot					•	
fytiinihappo				•	•	
proteiinit	•		•	•		
orgaaniset hapot	•					

3. Tavoitteet ja hypoteesit

Maisterintyön tavoitteena oli tutkia vaikuttaako valkuaisrehun tai säilörehun valinta lypsylehmän hiven- ja kivennäisaineiden saantiin. Työssä tarkasteltiin puitua härkäpapua hivenaineiden lähteenä verrattuna rypsirouheeseen, sekä härkäpapu-kevätevehnäsäilörehua hivenaineiden lähteenä verrattuna nurmisäilörehuun kahdella eri väkirehun raakavalkuaistasolla. Kivennäisaineista tarkasteltiin magnesiumia ja rikkiä, ja hivenaineista kuparia, rautaa, mangaania ja seleeniä. Tuloksia saatiin myös muista kivennäis- ja hivenainesta, mutta kaikkia tuloksia ei taustoitettu tähän maisterintyöhön.

Maisterintyössä tarkasteltiin kahta erillistä koetta, jotka molemmat ovat toimineen aineistona myös muihin maisterintutkielmiin. Tytti Termosen maisterintyössä tutkittiin härkäpapu-

kevätvehnäsäilörehun ja rypsin määrän vaikutusta lypsylehmän maitotuotokseen ja aineenvaihduntaan (2015, koe 1). Essi Tarsian maisterintyössä selvitettiin rypsin, härkäpavun ja *Spirulina platensis*-mikrolevän vaikutusta lypsylehmien valkuaisen hyväksikäyttöön (2016, koe 2) ja Sanna-Kaisa Kopponen maisterintyössä rypsin, härkäpavun ja *Spirulina platensis*-mikrolevän vaikutusta fosforin hyväksikäyttöön maidontuotannossa (2018, koe 2). Mainittuja aiheita ei toisteta tässä maisterintutkielmassa, vaan keskitytään kivennäis- ja hivenaineiden saantiin ja sulavuuteen.

Työn hypoteesit ovat: Hivenaineiden saanti ei eroa härkäpapudieetin ja rypsidieettiin välillä ja hivenaineiden saanti lisääntyy korvattaessa puolet nurmisäilörehusta härkäpapu-kevätvehnäkookiviljasäilörehulla.

4. Aineisto ja menetelmät

4.1. Kokeet

Tutkielmassa tarkasteltiin kahta ruokintakoetta, jotka toteutettiin Viikin opetus- ja tutkimustilan (60° N, 25° E) navetan parsiosastolla. Koe 1 järjestettiin 1.2.-26.4.2014. Kokeessa 1 korvattiin osa nurmirehusäilörehusta härkäpapu-kevätvehnäsäilörehulla ja tässä tutkielmassa selvitettiin muutoksen vaikutusta lypsylehmän kivennäis- ja hivenaineiden saantiin ja sulavuuteen. Koe 2 toteutettiin 21.2.2015-15.5.2015. Kokeessa 2 testattiin härkäpavun siemenen ja spirulina-levän vaikutusta lypsylehmän kivennäis- ja hivenaineiden saantiin ja sulavuuteen.

Molemmissa kokeissa koemalli oli kaksinkertainen 4 x 4 tasapainotettu latinalainen neliö. Jaksoja oli neljä ja niiden pituus oli kolme viikkoa. Ensimmäiset kaksi viikkoa olivat totutusviikkoja ja kolmas oli keruuviikko. Jakso alkoi lauantaina koekuppien tyhjentämisen jälkeen. Molemmissa kokeissa oli neljä erilaista ruokintaa.

4.2. Eläimet ja rehut

Koe 1

Kokeessa 1 oli 8 Ayrshire-rotuista useamman kerran (2-6) poikinnutta lehmää. Edellisestä poikimisesta oli kulunut keskimäärin $100 \pm 23,4$ (keskiarvo \pm keskihajonta) päivää ja kokeen alkaessa keskituotos oli $46 \pm 2,6$ kg maitoa päivässä. Kokeen alussa lehmät painoivat $706 \pm 57,1$ kg ja niiden

kuntoluokka oli $3,1 \pm 0,35$. Kokeen lopussa eläimet painoivat $717 \pm 57,6$ kg ja kuntoluokka oli $3,0 \pm 0,40$. Lehmät olivat kokeen ajan parressa.

Koeasetelma oli 2 x 2 faktoriaalinen, jossa faktoreina olivat säilörehun kasvilaji ja väkirehun valkuaispitoisuus. Kokeessa käytettiin nurmisäilörehua ja seosta, jossa puolet nurmirehun kuiva-aineesta korvattiin härkäpapu-kevätehnäsäilörehulla. Kevätehnän osuus härkäpapusäilörehusta oli noin 10 % kuiva-ainesta. Väkirehun raakavalkuaispitoisuus oli 175 tai 200 g/kg ka.

Nurmirehuna käytettiin 10.-11.6.2013 siiloon korjattua ensimmäisen sadon timotei-nurminata-säilörehua (*Phleum pratense*, *Festuca pratensis*) ja härkäpapu-kevätehnäsäilörehuna (*Vicia faba*, *Triticum aestivum*) 6.-7.8.2013 siiloon korjattua kokoviljasäilörehua (Termonen 2015). Viimeisellä jaksolla käytettiin siilorehun sijaan paaliin korjattua vastaavaa ensimmäisen sadon timotei-nurminatarehua, koska siilorehu loppui ennen kokeen päättymistä. Lisätietoja säilörehusta ja rehunäytteistä löytyy Termosen (2015) maisterintutkielmasta.

Säilörehujen seos sekoitettiin kolme kertaa viikossa (ma, ke, pe) CutMix-sekoittajalla (Pellon Group, Ylihärmä, Suomi). Rehuseoksessa oli puolet nurmirehua ja puolet härkäpapu-kevätehnäseosta kuiva-aineessa mitattuna. Rehuseos ja puhdas nurmirehu säilytettiin kylmiössä. Nurmirehua tai rehuseosta jaettiin kolme kertaa päivässä koerhukuppeihin (Rouhage Intake Control, Insentec, Marknesse, Alankomaat). Eläimet saivat syödä vapaasti ja rehua jaettiin niin paljon, että sitä jäi 5 % yli.

Eläimet saivat väkirehua 13 kg päivässä neljässä 3,25 kg:n erissä. Väkirehu sekoitettiin kahdesta täysrehusta (perusrehu ja rypsirehu) niin, että raakavalkuaispitoisuus oli joko 175 g/kg ka tai 200 g/kg ka.

Koe 2

Kokeessa 2 oli 8 Ayrshire-rotuista lehmää, joista neljällä oli pötsifisteli. Lehmät olivat useamman kerran poikineita ja keskimäärin niiden poikimisesta oli kokeen alkamisajankohtana kulunut $113 \pm 36,3$ päivää. Maitotuotos kokeen alussa oli 40 ± 5 kg. Lehmät painoivat kokeen alussa $707 \pm 63,2$ kg ja olivat kuntoluokaltaan $3,20 \pm 0,306$. Kokeen lopussa lehmät painoivat $713 \pm 38,9$ kg ja kuntoluokka oli $3,23 \pm 0,235$.

Kokeessa ruokintatyyppinä käytettiin seosrehuruokintaa. Erilaisia koeruokintaseoksia oli neljä ja koeasetelma oli 2 x 2 faktoriaalinen. Faktoreina olivat väkirehujen valkuaisäydennyksen eri lähteet rypsi ja härkäpapu, sekä molempien osittainen korvaaminen spirulina-levällä. Kokeessa tutkittiin rypsirouheen korvaamista kokonaan härkäpavulla, sekä *Spirulina platensis* mikrolevän käyttämistä osana valkuaisrehuannosta niin, että sen valkuaisella korvattiin puolet rypsin tai härkäpavun valkuaisesta. Koeruokinnat olivat isonitrogenisiä valkuaisrehujen suhteen. Ruokintojen laskennallinen raakavalkuaisen saanti valkuaisrehuista oli 854 g/pv, kun oletettiin kuiva-aineen syönniksi 22,0 kg/pv.

Säilörehuna käytettiin toisen sadon nurmisäilörehua, joka oli korjattu 22.7.2014 pyöröpaaleihin. Säilöntään käytettiin muurahaishappovalmistetta (AIV 2 Plus, Taminco Finland Oy, Oulu, Suomi) 7,7 l/tn rehua. Nurmiseos sisälsi 36 % timoteita, 45 % nurminataa, 9% monivuotista raiheinää (*Lolium perenne*) ja 9 % ruokonataa (*Festuca arundinacea*). Rehuseoksessa oli mukana koetilalla viljeltyä ohraa, joka murskattiin valssimyllyllä, melassileikettä (Raimix leike, Raisioagro Oy, Raisio, Suomi) ja kivennäistä (Seleen-E-Melli TMR-kivennäinen, Raisioagro Oy). Kokeessa mukana olevat lehmät saivat syödä vapaasti seosrehua. Koerehuina käytettiin koetilalla viljeltyä ja valssimyllyllä murskattua härkäpapua, lämpökäsiteltyä rypsirouhetta (Raimix rypsi, Raisioagro Oy), sekä spirulina-levää (Duolaco B. V., Hengalo, Alankomaat). Koko seoksen väkirehupitoisuus vakioitiin ohran määrää muuttamalla valkuaisrehujen raakavalkuaispitoisuuden ollessa vakio. Väkirehun osuus oli 45 % seoksen kuiva-aineesta.

Seosrehu sekoitettiin kolme kertaa viikossa (ma, ke, pe). Säilörehupaaleja pyöritettiin CutMix sekoittajassa 20 min ja seosrehu koottiin sekoittavassa rehuvaunussa (TMP-SUK M2, Pellon Group, Ylihärmä, Suomi). Leväjauhe sekoitettiin ohran sekaan ja seokseen lisättiin vettä kiinnittämään levä ohran pinnalle. Myös levättömien ruokintojen ohra kostutettiin. Seosrehua jaettiin kolmesti päivässä koerehukuppeihin 7 % enemmän kuin syönti oli ollut kahtena edellisenä päivänä.

4.3. Näytteet

Kokeissa 1 ja 2 näytteet kerättiin samalla tavalla. Lehmät lypsettiin päivittäin parressa putkilypsykoneella (Delpro, DeLaval, Tumba, Ruotsi) klo 6:00 ja 17:00 ja maitomäärästä pidettiin kirjaa koko koejakson ajan (Tru Test Ltd, Auckland, Uusi Seelanti). Maidon koostumus määritettiin keruuviikolla neljänä peräkkäisenä lypsykertana koejakson päivinä 18 ja 19. Maitonäytteeseen

sekoitettiin Bronopol-säilöntäainepilleri ja näytteet lähetettiin analysoitavaksi Valion Seinäjoen aluelaboratorioon. Siellä näytteistä analysoitiin laktoosi, valkuainen, rasva ja urea infrapuna-analysaattorilla (Milco Scan FT 6000, Foss, Hillerød, Tanska).

Sontanäytteet (0,5 l) kerättiin spot-näytteinä suoraan peräsuolesta koejakson päivinä 17-20 klo 7:00 ja 15:30. Näytteet pakastettiin ja myöhemmin analyysijä varten ne sulatettiin, sekoitettiin, yhdistettiin jaksoittain ja lehmittäin, kuivattiin, sekä jauhettiin.

Rehunäytteet (2 kg) kerättiin rehun sekoituksen yhteydessä kolme kertaa keruuviikon aikana (ma, ke, pe). Lisäksi joka viikon maanantai ja perjantai otettiin näyte kuiva-aineen määrittystä varten. Rehunkulutus kirjattiin ylös joka päivä ennen ja jälkeen rehunjaon vaakakupeilla.

4.4. Näytteiden analysointi

Kokeissa 1 ja 2 käytettiin samoja analyysimenetelmiä. Laboratorioanalyysit näytteistä tehtiin Helsingin yliopiston maataloustieteiden laitoksen kotieläintieteen laboratoriossa. Sonta- ja rehunäytteistä määritettiin primaarinen ja sekundaarinen kuiva-aine kuumentamalla niitä lämpökaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa) 103 °C:ssa 20-24 tuntia. Sonnan ja rehun analyysinäytteitä kuivattiin kuivauskaapissa 103 °C:ssa tunnin ajan, minkä jälkeen rehunäytettä kuivattiin vielä kaksi vuorokautta 50 °C:ssa ja sontanäytettä 70 °C:ssa. Kuivatut analyysinäytteet jauhettiin vasaramyllyllä (sakomylly KT-3100, Koneteollisuus Oy, Helsinki, Suomi) käyttäen 1 mm seulaa rehunäytteille ja 1,5 mm seulaa sontanäytteille. Sulavuuksien laskemista varten rehu- ja sontanäytteistä määritettiin happoon liukenematon tuhka (AIA) (Van Keulen ja Young 1977).

Hivenainepitoisuudet määritettiin induktiivisesti kytketyllä plasma-optisella emissio-laitteella (ICP) (ICP-OES, iCap6000 series, malli 6300MFC, Thermo Scientific, Iso-Britannia). ICP-ajoa varten sonta- ja rehunäytteet esikäsiteltiin mikroaaltomärkäpoltolla (CEM Corporation, Matthews, NC, Yhdysvallat). Teflonputkiin (polytetrafluorieteeni, PTFE) (CEM Corporation, Matthews, NC, Yhdysvallat) punnittiin 300 mg analyysinäytettä. Näytteeseen sekoitettiin 10 ml 67 %:sta typpihappoa (HNO₃) (Normatom for trace metal analysis, VWR International Oy, Helsinki, Suomi). Seosta seisotettiin yön yli ja sen jälkeen lisättiin 1 ml vetyperoksidia (H₂O₂) (Fluka analytical, Sigma-Aldrich, Helsinki, Suomi). Näytteet kuumennettiin mikroaaltouunissa 1600 W teholla hitaasti 170°C:ssa. Polttoaika oli yhteensä 130 min + jäähdytys 40 min. Näytteet suodatettiin tuh kattoman

suoratinpaperin (Whatman 42) läpi 50 ml mittapulloihin ja mittapullo täytettiin merkkiin milli-Q vedellä (Q Pod Element Millipore Corporation, MA USA).

ICP-analyysissä käytetty sumutinkammio oli V-Groove ja matriisi 20 % HNO₃. Käytetyt parametrit on esitetty taulukossa 5 ja liitteessä 1 on ilmoitettu käytetyt aksiaaliset ja radiaaliset aallonpituudet kullekin alkuaineelle. Standardeina käytettiin liitteen 1 mukaisia alkuainestandardeja, sekä lisäksi BCR-129 heinästandardia (Joint Research Centre of European Commission, Brysseli, Belgia). Rinnakkaisnäytteet tehtiin 10 % näytteistä.

Taulukko 5. ICP-analyysimenetelmän asetukset

Parametri	Arvo
Huuhtelupumpun nopeus	50 rpm
Näytteenottopumpun nopeus	50 rpm
RF-teho	1150 W
Sumutinkaasun virtausnopeus	0.65 L/min
Kantokaasun virtausnopeus	0.5 L/min
Maksimi integraatioaika	30 s

Seleenin pitoisuudet sonnassa ja rehuissa määritettiin Eurofins Viljavuuspalvelu Oy:ssa Mikkelissä (menetelmä SFS-EN 14627:2005, akkreditoitu SFS EN ISO/IEC 17025:2005 FINAS T096).

4.5. Tulosten laskenta

Tulosten laskennassa käytettiin molemmissa kokeissa keruuviikon tuloksia. Tulokset testattiin varianssianalyysillä käyttäen SAS-ohjelmiston (versio 9.4) Mixed-mallia. Kokeen 1 ruokintojen neliösumma jaettiin edelleen ortogonaalisiin kontrasteihin: 1) Nurmisäilörehu vs härkäpapurumisäilörehu 2) Valkuaisruokinnan vaikutus, 3) päävaikutusten 1 ja 2 yhdysvaikutus. Kokeen 2

ortogonaaliset kontrastit olivat 1) Rypsi vs härkäpapu, 2) Spirulinan vaikutus, 3) päävaikutusten 1 ja 2 yhdysvaikutus.

Kokeissa 1 ja 2 käytettiin tilastomallia

$$Y_{ijklm} = \mu + S_i + A(S)_{ij} + P_k + D_l + (S \times D)_{il} + F_{ijklm}$$

Mallissa μ = keskiarvo

S = neliön vaikutus

A(S) = eläimen vaikutus neliön sisällä

P = jakson vaikutus

D = ruokinnan vaikutus

S x D = neliön ja ruokinnan yhdysvaikutus

F = virhetermi

Säilörehun kuiva-aine korjattiin Huidan ym. (1986) mukaan.

Sonta- ja rehunäytteiden kivennäis- ja hivenainepitoisuudet laskettiin kaavalla

$$\text{näytteen konsentraatio} - \text{nollanäytteen konsentraatio}$$

Rehun kivennäis- ja hivenainepitoisuudet (g/kg ka tai mg/kg ka) laskettiin kaavalla

$$\frac{\text{Kivennäisaineen saanti}}{\text{toteutunut ka syönti}}$$

Kivennäis- ja hivenaineiden saanti g/pv tai mg/pv laskettiin kaavalla

$$\text{Kivennäisaineen pitoisuus rehussa} \times \text{rehun syönti}$$

Kivennäis- ja hivenaineiden näennäiset sulavuudet laskettiin rehun sisäisen merkkiaineen AIA:n avulla käyttäen kaavaa:

$$1 - \left(\frac{\text{AIA dieetissä}}{\text{AIA sonnassa}} \times \frac{\text{kivennäisaine sonnassa}}{\text{kivennäisaine dieetissä}} \right)$$

P-arvo tulkittiin erittäin merkitseväksi, jos se oli <0,001. P<0,01 oli hyvin merkitsevä, P<0,05 merkitsevä ja P<0,10 suuntaa antava ero.

Kokeessa 2 poistettiin yhden lehmän havainnot laskuista, koska eläimen sonnan kivennäisainepitoisuudet olivat kauttaaltaan kohtuuttoman suuret. Eläimen tiedot on poistettu rehujen kivennäis- ja hivenainepitoisuuden, saannin, sonnan, sekä sulavuuden laskuista. Lisäksi kokeessa 2 poistettiin yksittäisiä sonnan mangaanipitoisuuksia, koska ICP-analyysin esikäsittely märkäpoltton menetelmällä ei onnistunut jakson 1 kaikilla näytteillä.

Molempien kokeiden sulavuustuloksista on poistettu epärealistisen pienet sulavuuden arvot. Pienet sulavuudet johtuivat arveluttavan korkeista sonnan pitoisuuksista. Yksittäiset korkeat pitoisuudet sonnassa johtuivat kontaminaatiosta näytteiden otossa tai märkäpoltton epäonnistumisesta sonnanalyysissä.

5. Tulokset

5.1. Maitotuotos, sekä kuiva-aineen ja orgaanisen aineen saanti ja sulavuus

Kokeessa 1 väkirehujen syönti oli joka ruokinnalla samansuuruinen (Taulukko 6). Matalalla väkirehun valkuaistasolla nurmi-härkäpapusäilörehua syötiin enemmän kuin nurmirehua nurmiruokinoilla, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevää. Orgaanisen aineen ja kuiva-aineen sulavuudet heikkenivät kun väkirehun raakavalkuaispitoisuus suureni nurmidieetillä, mutta paranivat nurmi-härkäpudieetillä (yhdyksvaikutus $P < 0,1$). Koeruokinnat eivät vaikuttaneet maitotuotokseen, mutta energiakorjattu maitotuotos (EKM) pieneni suuntaa-antavasti kun väkirehun raakavalkuaispitoisuus suureni ($P < 0,1$).

Taulukko 6 Koe 1 Väkirehun valkuaispitoisuuden ja nurmi-härkäpapusäilörehun vaikutus orgaanisen aineen ja kuiva-aineen saantiin ja sulavuuteen sekä maitotuotokseen (Termonen 2015, Lamminen ym. 2016)

	Koeruokinnat ¹				SEM	P-arvot ²		
	Nurmi		Nurmi-härkäpapu			Säilö-rehu	RV	Yhdys-vaikutus
Väkirehun raakavalkuaispitoisuus	175	200	175	200				
Havainnot, kpl	8	7	6	8				
Syönti, kg ka/d								
Säilörehu	13,6	13,9	14,5	13,7	0,48	0,466	0,529	0,261
Väkirehu	11,3	11,3	11,3	11,3				
Yhteensä	25,0	25,2	25,8	25,0	0,48	0,459	0,550	0,272
Saanti kg/d								
OM	23,2	23,4	23,9	23,2	0,45	0,446	0,517	0,273
Sulavuus, g/kg								
KA	701	686	680	699	9,6	0,590	0,785	0,065
OM	714	700	693	713	9,4	0,624	0,707	0,068
Tuotos, kg/d								
Maito	35,5	35,4	36,1	35,8	1,02	0,226	0,565	0,760
EKM	38,1	36,8	38,4	37,1	0,81	0,608	0,062	0,975

¹Nurmi 175= Nurmirehu, valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi 200= Nurmirehu, valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 175= Nurmi-härkäpapusäilörehuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 200= Nurmi-härkäpapusäilörehuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV)

²Säilörehu= säilörehun vaikutus (nurmi vrt. nurmi-härkäpapu); RV= raakavalkuaispitoisuuden vaikutus (175 vrt. 200); Säilörehu * RV= Säilörehun ja raakavalkuaispitoisuuden välinen yhdysvaikutus

OM = orgaaninen aine; KA = kuiva-aine; EKM = energiakorjattu maitotuotos

Kokeessa 2 seosrehun kuiva-aineen ja orgaanisen aineen saanti väheni, kun seokseen lisättiin spirulina-levää (Taulukko 7, $P < 0,05$). Kuiva-aineen ja orgaanisen aineen sulavuudet olivat suurempia härkäpapudieetillä kuin rypsidieetillä ($P < 0,05$). Spirulina-lisä vähensi maitotuotosta rypsi-ruokinnalla, mutta lisäsi tuotosta härkäpapuruokinnalla (yhdysvaikutus $P < 0,01$). EKM tuotos oli pienempi härkäpapudieetillä kuin rypsidieeteillä ($P < 0,01$). Spirulina-lisä ei vaikuttanut EKM tuotokseen.

Taulukko 7 Koe 2 Valkuaisrehun vaikutus kuiva-aineen ja orgaanisen aineen saantiin ja sulavuuteen, sekä maitotuotokseen

	Koeruokinnat ¹				SEM	P-arvot ²		
	Rypsi	Rypsi + spirulina	Härkäpapu	Härkäpapu + spirulina		Rypsi vs. härkäpapu	Spirulina	Yhdysvaikutus
Saanti, kg/d								
KA	23,3	22,8	23,1	22,3	0,57	0,198	0,037	0,500
OM	21,2	20,8	21,1	20,3	0,52	0,281	0,042	0,450
Sulavuus, g/kg								
KA	729	732	743	735	3,2	0,025	0,430	0,130
OM	747	751	760	752	3,4	0,045	0,564	0,128
Tuotos, kg/d								
Maito	31,0	30,0	28,5	29,7	0,53	<0,001	0,857	0,002
EKM	34,1	33,8	32,3	32,9	0,86	0,006	0,696	0,303

¹ rypsi = Valkuaisrehuna rypsiouhe; Rypsi + spirulina = Valkuaisrehuna rypsi-spirulina-seos (1:1 RV); Härkäpapu = Valkuaisrehuna härkäpapu; Härkäpapu + spirulina = Valkuaisrehuna härkäpapu-spirulina – seos (1:1 RV)

²Rypsi vs. härkäpapu = Valkuaisrehun vaikutus (rypsi ja rypsi + spirulina vrt. härkäpapu ja härkäpapu + spirulina); Spirulina = spirulinan vaikutus (rypsi ja härkäpapu vrt. rypsi + spirulina ja härkäpapu + spirulina); Yhdysvaikutus = Valkuaisrehun ja spirulinan välinen yhdysvaikutus (rypsi vs. härkäpapu x spirulina)

KA = kuiva-aine; OM = orgaaninen aine; EKM = energiakorjattu maitotuotos

5.2. Rehujen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet

Nurmi-härkäpapusäilörehu sisälsi vähemmän rautaa (16 %), mangaania (20 %) ja seleeniä (38 %) kuin nurmisäilörehu, mutta 5 % enemmän kuparia kokeessa 1 (Taulukko 8). Magnesiumin pitoisuudessa ei ollut suurta eroa säilörehujen välillä.

Taulukko 8 Koe 1 Koerehujen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet

	Nurmi-säilörehu	Nurmi-härkäpapusäilörehu	Väkirehu RV 175	Väkirehu RV 200
<i>Kivennäisaineet, g/kg KA</i>				
Ca	4,70	5,18	7,69	8,10
K	22,2	21,6	17,4	15,3
Mg	1,63	1,70	2,77	3,35
P	2,42	2,61	4,33	5,66
S	2,03	1,82	2,43	3,10
<i>Hivenaineet, mg/kg KA</i>				
Cu	7,42	7,84	14,0	16,7
Fe	333	280	200	218
Mn	28,2	22,5	34,1	45,6
Mo	0,40	0,36	ei tietoa	ei tietoa
Se	0,40	0,25	0,52	0,55

Kokeessa 2 kivennäisrehu sisälsi 87 % enemmän kalsiumia, kuparia ja seleeniä, yli 42 % enemmän rautaa ja mangaania, sekä yli 73 % enemmän magnesiumia ja sinkkiä kuin muut rehukomponentit yhteensä (Taulukko 9). Rypsirouheessa oli enemmän magnesiumia (73 %), rikkiä (66 %), rautaa (9 %), mangaania (85 %) ja seleeniä (42 %) kuin härkäpavun siemenessä, mutta kuparipitoisuus oli 70 % suurempi härkäpavussa kuin rypsisissä. Seleenin pitoisuus spirulina-levässä erosi jaksojen välillä, koska käytössä oli eri spirulinaerät. Erien välillä oli 98 %:n ero seleenipitoisuudessa.

Taulukko 9 Koe 2 Koerehujen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet

	Nurmi- säilörehu	Ohra	Melassi- leike	Kivennäinen	Proteiinilisä		
					Rypsi	Härkäpapu	Spirulina
<i>Kivennäisaineet, g/kg KA</i>							
Ca	4,73	0,655	9,08	210	9,23	0,98	1,49
K	32,6	5,44	9,87	<0,7	12,9	12,8	14,1
Mg	1,53	1,33	3,35	60	5,66	1,53	3,06
P	3,09	3,81	5,72	0,15	8,56	6,10	9,41
S	1,97	1,38	3,06	0,59	5,76	1,94	6,77
<i>Hivenaineet, mg/kg KA</i>							
Cu	5,78	4,29	15,2	420	6,32	21,3	3,31
Fe	304	55,6	121	2500	59,4	54,0	687
Mn	29,8	40,4	70,5	580	64,8	9,93	120
Se ¹	<0,02	0,13	0,49	19,28	0,12	0,07	0,04 / 1,63
Zn	25,7	34,2	83,8	1300	58,0	66,6	27,7

Molybdeenin pitoisuudet saatiin määritettyä (mg/kg ka) vain nurmisäilörehusta 3,78, kivennäisestä 0,36 ja härkäpavusta 3,91.

¹ Seleenin pitoisuus spirulina-levässä vaihteli syötetyn rehuerän mukaan merkittävästi. Jaksossa 1 pitoisuus oli 1,63 mg/kg ka. Jaksoissa 2-4 pitoisuus oli keskimäärin 0,04 mg /kg ka.

5.3. Dieettien kivennäis- ja hivenainepitoisuudet

Kokeessa 1 dieetin magnesium-, fosfori-, rikki-, kupari- ja mangaanipitoisuudet olivat 10-15 % suuremmat dieetin raakavalkuaispitoisuuden ollessa 200 g/kg ka kuin 175 g/kg ka (Taulukko 10). Nurmidieteissä oli enemmän rautaa (9 %), mangaania (7 %) ja seleeniä (18 %) kuin nurmi-härkäpapudieteissä, mutta muuten nurmirehujen välillä ei ollut suuria pitoisuuseroja.

Taulukko 10 Koeruokintojen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet kokeessa 1

Säilörehu	Koeruokinnat ¹			
	Nurmi		Nurmi-härkäpapu	
Väkirehun raakavalkuaispitoisuus	175	200	175	200
<i>Dieetin kivennäispitoisuus g/kg ka</i>				
Ca	6,05	5,88	6,01	6,42
K	20,0	19,4	20,0	18,8
Mg	2,15	2,37	2,14	2,43
P	3,30	3,93	3,40	3,97
S	2,21	2,60	2,19	2,45
<i>Dieetin hivenainepitoisuus mg/kg ka</i>				
Cu	10,4	11,1	10,2	11,7
Fe	273	281	247	256
Mn	30,8	36,6	28,7	33,8
Se	0,46	0,47	0,37	0,39

¹ Nurmi 175= Nurmirehu, valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi 200= Nurmirehu, valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 175= Nurmi-härkäpapusäilörehuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 200= Nurmi-härkäpapusäilörehuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV)

Kokeessa 2 härkäpapudieeteissä oli 10 % vähemmän kaliumia, magnesiumia, rikkiä ja mangaania, kuin rypsidieeteissä (Taulukko 11). Kuparia oli 11 % enemmän ja sinkkiä 2 % enemmän härkäpapudieeteissä kuin rypsidieeteissä. Spirulina lisäsi raudan pitoisuutta 7 % molemmilla dieeteillä.

Taulukko 11 Koeruokintojen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet kokeessa 2

	n	Koeruokinnat ¹			
		Rypsi	Rypsi + Spirulina	Härkäpapu	Härkäpapu + Spirulina
<i>Dieetin kivennäisainepitoisuus g/kg ka</i>					
Ca	31	6,90	6,49	6,08	6,09
K	31	21,8	21,7	22,0	21,8
Mg	31	2,64	2,48	2,26	2,29
P	31	3,93	3,85	3,75	3,76
S	31	2,23	2,16	1,88	2,00
<i>Dieetin hivenainepitoisuus mg/kg ka</i>					
Cu	31	10,7	10,6	12,5	11,5
Fe	31	228	244	227	244
Mn	31	44,6	45,6	38,8	42,6
Se	31	0,30	0,31	0,30	0,31
Zn	31	49,0	47,8	50,6	48,5

¹ rypsi = Valkuaisrehuna rypsirouhe; Rypsi + spirulina = Valkuaisrehuna rypsi-spirulina-seos (1:1 RV); Härkäpapu = Valkuaisrehuna härkäpapu; Härkäpapu + spirulina= Valkuaisrehuna härkäpapu-spirulina –seos (1:1 RV)

5.4. Dieettien kivennäis- ja hivenaineiden saanti

Fosforin saanti suureni suuntaa-antavasti nurmi-härkäpapudieeteillä verrattuna nurmidieettiin kokeessa 1 (Taulukko 12, $P<0,1$). Nurmi-härkäpapudieetti pienensi raudan ja mangaanin saantia suuntaa-antavasti ($P<0,1$) ja seleenin saantia erittäin merkittävästi ($P<0,001$). Korkeampi väkirehun raakavalkuaistaso 200 g/kg ka lisäsi magnesiumin, fosforin, rikin, kuparin ja mangaanin saanteja merkittävästi ($P<0,01$) ja seleenin saantia suuntaa-antavasti ($P<0,1$), mutta vähensi kaliumin saantia ($P<0,05$) verrattuna matalampaan väkirehun raakavalkuaistasoon 175 g/mg ka.

Taulukko 12 Koe 1 Raakavalkuaispitoisuuden ja nurmi-härkäpapusäilörehun vaikutus kivennäis- ja hivenaineiden saantiin

Säilörehu	Koeruokinnat ¹				SEM	P-arvot ²		
	Nurmi		Nurmi-härkäpapu			Säilörehu	RV	Säilörehu * RV
Väkirehun raakavalkuaispitoisuus	175	200	175	200				
Saanti g/d								
Ca	151	148	152	159	4,6	0,129	0,609	0,208
K	500	489	515	471	13,4	0,927	0,028	0,156
Mg	53,6	59,2	54,7	60,6	0,79	0,162	<0,001	0,977
P	82,3	98,8	87,2	99,3	1,58	0,071	<0,001	0,119
S	55,2	65,6	55,8	61,2	0,07	0,238	0,001	0,144
Saanti mg/d								
Cu	259	280	259	291	6,25	0,362	0,001	0,284
Fe	6786	7102	6358	6445	207,0	0,011	0,241	0,512
Mn	768	925	733	847	37,1	0,092	0,002	0,483
Se ³	131	139	88,6	95,4	4,56	<0,001	0,056	0,912
	(11,4)	(11,7)	(9,4)	(9,7)				

¹ Nurmi 175= Nurmirehu, valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi 200= Nurmirehu, valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 175= Nurmi-härkäpapusäilöhuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 200= Nurmi-härkäpapusäilöhuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV)

² Säilörehu= säilörehun vaikutus (nurmi vrt. nurmi-härkäpapu); RV= raakavalkuaispitoisuuden vaikutus (175 vrt. 200); Säilörehu * RV= Säilörehun ja raakavalkuaispitoisuuden välinen yhdysvaikutus

³ Ei normaalisti jakautunut, arvot on korotettu potenssiin 2. Alkuperäiset arvot ovat alapuolella sulussa.

Kokeessa 2 kalsiumin, fosforin ja mangaanin saannit pienenevät härkäpapudieetillä rypsidieettiin verrattuna (Taulukko 13, $P < 0,01$). Spirulina pienensi kalsiumin, kaliumin, fosforin ja sinkin saanteja ($P < 0,05$), mutta suurensi raudan ($P < 0,05$) ja mangaanin saanteja ($P < 0,1$). Magnesiumin saanti pieneni härkäpapudieetillä verrattuna rypsidieettiin ($P < 0,001$) ja spirulina pienensi magnesiumin saantia molemmilla dieeteillä ($P < 0,01$), kuitenkin hyvin vähän härkäpapuruokinnalla (yhdysvaikutus $P < 0,1$). Rikin saanti pieneni härkäpapudieetillä verrattuna rypsidieettiin ($P < 0,001$). Rypsin korvaaminen spirulinalla pienensi hieman rikin saantia, mutta härkäpavun korvaaminen ei vaikuttanut oleellisesti rikin saantiin (yhdysvaikutus $P < 0,1$). Kuparin saanti oli keskimäärin suurempi härkäpapudieetillä kuin rypsidieetillä, mutta saanti pieneni spirulinan vuoksi selvästi enemmän härkäpapudieetillä (yhdysvaikutus $P < 0,01$).

Taulukko 13 Koe 2 Valkuaisrehun vaikutus kivennäisaineiden ja hivenaineiden saantiin

	Koeruokinnat ¹				SEM	P-arvot ²		
	rypsi	Rypsi + Spirulina	Härkäpapu	Härkäpapu + Spirulina		Rypsi vs. Härkäpapu	Spirulina	Yhdys- vaikutus
<i>n</i>	8	7	8	8				
<i>Saanti g/d</i>								
Ca	161	149	141	135	4,00	<0,001	0,002	0,137
K	508	498	508	485	13,2	0,362	0,028	0,369
Mg	61,6	57,0	52,1	51,0	1,53	<0,001	0,004	0,052
P	91,7	88,2	86,6	83,8	2,47	0,005	0,042	0,831
S	52,1	49,6	43,6	44,3	1,34	<0,001	0,258	0,056
<i>Saanti mg/d</i>								
Cu	250	243	289	255	7,07	<0,001	<0,001	0,002
Fe	5340	5590	5270	5400	150,7	0,147	0,041	0,470
Mn	1040	1050	897	949	27,8	<0,001	0,078	0,172
Se	7,11	7,19	6,91	6,91	0,236	0,120	0,756	0,792
Zn	1140	1100	1170	1080	30,04	0,792	0,001	0,156

¹ rypsi = Valkuaisrehuna rypsirouhe; Rypsi + spirulina = Valkuaisrehuna rypsi-spirulina-seos (1:1 RV); Härkäpapu = Valkuaisrehuna härkäpapu; Härkäpapu + spirulina = Valkuaisrehuna härkäpapu-spirulina –seos (1:1 RV)

²Rypsi vs. härkäpapu = Valkuaisrehun vaikutus (rypsi ja rypsi + spirulina vrt. härkäpapu ja härkäpapu + spirulina); Spirulina = spirulinan vaikutus (rypsi ja härkäpapu vrt. rypsi + spirulina ja härkäpapu + spirulina); Yhdysvaikutus = Valkuaisrehun ja spirulinan välinen yhdysvaikutus (rypsi vs. härkäpapu x spirulina)

5.5. Kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuudet sonnassa

Kokeessa 1 kalsiumin pitoisuus sonnassa pienei, kun nurmirehua korvattiin härkäpapusäilörehulla matalalla väkirehun raakavalkuaistasolla, mutta korkeammalla väkirehun raakavalkuaistasolla nurmirehun korvaaminen härkäpapusäilörehulla suurensi kalsiumin pitoisuutta (Taulukko 14, yhdysvaikutus $P < 0,1$). Magnesiumin pitoisuus nurmi-härkäpapusäilörehulla oli suurempi verrattuna nurmidieetteihin molemmilla väkirehun raakavalkuaistasoilla ($P < 0,1$), mutta seleenin pitoisuus oli vastaavasti pienempi nurmi-härkäpapusäilörehulla verrattuna nurmidieetteihin ($P < 0,05$). Väkirehun raakavalkuaistaso ei vaikuttanut sonnan pitoisuuksiin.

Taulukko 14 Koe 1 Väkirehun raakavalkuaispitoisuus ja nurmi-härkäpapusäilörehun vaikutus sonnan kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin

Säilörehu	Koeruokinnat ¹				SEM	P-arvot ²		
	Nurmi		Nurmi-härkäpapu			Säilörehu	RV	Säilörehu x RV
Väkirehun raakavalkuais- pitoisuus	175	200	175	200				
<i>Sonnassa g/kg ka</i>								
Ca	14,9	13,9	13,9	15,0	0,59	0,956	0,865	0,059
K	5,91	6,07	5,28	5,45	0,505	0,135	0,663	0,990
Mg	6,43	6,51	6,86	6,73	0,238	0,061	0,849	0,513
P	6,80	6,33	6,88	6,63	0,418	0,654	0,357	0,760
S	2,83	2,84	2,97	2,86	0,075	0,289	0,473	0,391
<i>Sonnassa mg/kg ka</i>								
Cu	39,6	38,1	40,3	39,4	1,18	0,324	0,228	0,751
Fe	583	557	530	497	64,8	0,267	0,534	0,952
Mn	107	107	114	109	3,66	0,178	0,455	0,452
Se	1,02	1,05	0,91	0,85	0,058	0,016	0,775	0,355
Zn	149	138	155	150	9,11	0,288	0,337	0,698

¹ Nurmi 175= Nurmirehu, valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi 200= Nurmirehu, valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 175= Nurmi-härkäpapusäilörehuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 200= Nurmi-härkäpapusäilörehuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV)

² Säilörehu= säilörehun vaikutus (nurmi vrt. nurmi-härkäpapu); RV= raakavalkuaispitoisuuden vaikutus (175 vrt. 200); Säilörehu * RV= Säilörehun ja raakavalkuaispitoisuuden välinen yhdysvaikutus

Kokeessa 2 kalsiumin, magnesiumin ja mangaanin ($P < 0,05$), sekä fosforin ($P < 0,1$) pitoisuudet sonnassa olivat pienemmän härkäpapudieeteillä kuin rypsidieeteillä (Taulukko 15). Spirulina lisäsi mangaanin pitoisuutta sonnassa ($P < 0,1$). Rikin pitoisuus sonnassa oli pienempi härkäpapudieeteillä kuin rypsidieeteillä ($P = 0,001$), ja spirulina lisäsi pitoisuutta vain härkäpapudieetillä (yhdysvaikutus $P < 0,1$). Kuparin pitoisuus puolestaan oli suurempi härkäpapudieeteillä kuin rypsidieeteillä, ja spirulina pienensi pitoisuutta vain härkäpapudieetillä (yhdysvaikutus $P < 0,05$).

Taulukko 15 Koe 2 Valkuaisrehun vaikutus sonnän kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin

	n	Koeruokinnat ¹				SEM	P-arvot ²		
		rypsi	Rypsi + Spirulina	Härkäpapu	Härkäpapu + Spirulina		Rypsi vs. Härkäpapu	Spirulina	Yhdysvaikutus
n		8	7	8	8				
<i>Sonnassa g/kg ka</i>									
Ca	31	19,2	19,1	18,1	18,0	0,60	0,028	0,863	0,956
K	31	6,20	7,13	7,34	7,30	0,693	0,081	0,221	0,166
Mg	31	6,91	6,72	6,11	6,08	0,182	0,001	0,436	0,569
P	31	10,6	10,5	9,62	9,82	0,495	0,065	0,922	0,719
S	31	3,06	3,06	2,80	3,00	0,0580	0,001	0,076	0,064
<i>Sonnassa mg/kg ka</i>									
Cu	31	35,3	34,9	42,3	38,2	0,81	<0,001	0,011	0,029
Fe	31	723	800	817	844	60,9	0,229	0,363	0,653
Mn ³	25	123	126	109	119	4,4	0,012	0,084	0,332
Se	31	0,88	0,90	0,89	0,90	0,029	0,946	0,571	0,822
Zn	31	141	139	149	143	4,48	0,160	0,380	0,699

¹ rypsi = Valkuaisrehuna rypsirouhe; Rypsi + spirulina = Valkuaisrehuna rypsi-spirulina-seos (1:1 RV); Härkäpapu = Valkuaisrehuna härkäpapu; Härkäpapu + spirulina = Valkuaisrehuna härkäpapu-spirulina –seos (1:1 RV)

²Rypsi vs. härkäpapu = Valkuaisrehun vaikutus (rypsi ja rypsi + spirulina vrt. härkäpapu ja härkäpapu + spirulina); Spirulina = spirulinan vaikutus (rypsi ja härkäpapu vrt. rypsi + spirulina ja härkäpapu + spirulina); Yhdysvaikutus = Valkuaisrehun ja spirulinan välinen yhdysvaikutus (rypsi vs. härkäpapu x spirulina)

³ Mn jakson 1 sonta-analyysit eivät kaikki onnistuneet. Ruokintojen n: rypsi = 6, rypsi + härkäpapu = 5, härkäpapu = 7, härkäpapu + spirulina = 7

5.6. Kivennäis- ja hivenaineiden sulavuudet

Väkirehun raakavalkuaispitoisuuden lisääminen pienensi kalsiumin, magnesiumin ja kuparin sulavuutta nurmisäilörehuruokinnalla, mutta suurensi nurmi-härkäpapusäilörehuruokinnalla (koe 1, Taulukko 16, yhdysvaikutus $P < 0,1$). Rikin sulavuus pieneni nurmi-härkäpapudieetillä verrattuna nurmidieettiin ($P < 0,1$), ja oli suurempi korkealla kuin matalalla väkirehun raakavalkuaistasolla ($P < 0,01$). Fosforin sulavuus parani korkeammalla väkirehun raakavalkuaistasolla verrattuna matalaan raakavalkuaistasoon ($P < 0,01$).

Taulukko 16 Koe 1 Väkirehun valkuaispitoisuuden ja Härkäpapu-nurmisäilörehun vaikutus kivennäis- ja hivenaineiden sulavuuteen

Säilörehu	n ³	Koeruokinnat ¹				SEM	P-arvot ²		
		Nurmi		Nurmi-härkäpapu			Säilörehu	RV	Säilörehu x RV
Raakavalkuaispitoisuus		175	200	175	200				
<i>Sulavuus %</i>									
Ca	27	36,2	26,8	24,1	26,3	4,30	0,119	0,228	0,086
K	29	91,3	90,2	91,5	91,3	0,84	0,313	0,284	0,524
Mg	26	15,8	15,1	-4,77	14,6	6,24	0,101	0,040	0,040
P	29	38,2	50,4	35,3	49,6	4,17	0,636	0,005	0,773
S	29	61,5	66,3	56,1	64,7	2,15	0,098	0,005	0,331
Cu	25	-2,43	-4,23	-27,0	-4,01	7,99	0,062	0,091	0,065
Fe	23	38,9	43,7	43,7	44,3	7,75	0,716	0,666	0,742
Mn	25	-6,88	1,48	-10,9	-2,58	9,00	0,576	0,255	0,997
Se	28	32,8	31,4	32,8	35,5	3,42	0,319	0,730	0,380

¹ Nurmi 175= Nurmirehu, valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi 200= Nurmirehu, valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 175= Nurmi-härkäpapusäilörehuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 175 g/kg ka (RV); Nurmi-härkäpapu 200= Nurmi-härkäpapusäilörehuseos (1:1 KA), valkuaisruokinta 200 g/kg ka (RV)

² Säilörehu= säilörehun vaikutus (nurmi vrt. nurmi-härkäpapu); RV= raakavalkuaispitoisuuden vaikutus (175 vrt. 200); Säilörehu * RV= Säilörehun ja raakavalkuaispitoisuuden välinen yhdysvaikutus

³ tuloksista on poistettu arveluttavan pienet sulavuuden arvot

Kokeessa 2 ruokinnat eivät juuri vaikuttaneet hivenaineiden sulavuuteen (Taulukko 17). Rypsi valkuaisrehuna lisäsi rikin sulavuutta, mutta vähensi fosforin sulavuutta verrattuna härkäpapuun ($P < 0,1$).

Taulukko 17 Koe 2 Valkuaisrehun vaikutus kivennäis- ja hivenaineiden sulavuuteen

	n ³	Koeruokinnat ¹				SEM	P-arvot ²		
		rypsi	Rypsi + Spirulina	Härkä- papu	Härkäpapu + Spirulina		Rypsi vs. Härkäpapu	Spirulina	Yhdys- vaikutus
<i>Sulavuus %</i>									
Ca	31	24,8	20,4	23,4	21,5	2,72	0,939	0,151	0,570
K	31	92,3	91,1	91,4	91,2	0,81	0,341	0,111	0,297
Mg	31	29,2	26,9	30,2	29,7	2,20	0,313	0,453	0,626
P	31	27,0	25,9	34,0	31,0	3,41	0,051	0,476	0,741
S	31	62,9	61,8	61,5	60,5	0,88	0,094	0,170	0,996
Cu	31	10,8	11,2	12,9	12,2	2,04	0,427	0,924	0,786
Fe ³	30	15,4	11,1	14,5	8,57	6,52	0,779	0,418	0,896
Mn ⁴	25	25,7	26,2	27,7	26,2	3,03	0,662	0,829	0,642
Se	31	22,0	22,7	23,6	23,7	2,43	0,580	0,862	0,902
Zn	31	22,2	21,4	24,3	21,8	2,37	0,550	0,435	0,684

¹ rypsi = Valkuaisrehuna rypsirouhe; Rypsi + spirulina = Valkuaisrehuna rypsi-spirulina-seos (1:1 RV); Härkäpapu = Valkuaisrehuna härkäpapu; Härkäpapu + spirulina = Valkuaisrehuna härkäpapu-spirulina –seos (1:1 RV)

² Rypsi vs. härkäpapu = Valkuaisrehun vaikutus (rypsi ja rypsi + spirulina vrt. härkäpapu ja härkäpapu + spirulina); Spirulina = spirulinan vaikutus (rypsi ja härkäpapu vrt. rypsi + spirulina ja härkäpapu + spirulina); Yhdysvaikutus = Valkuaisrehun ja spirulinan välinen yhdysvaikutus (rypsi vs. härkäpapu x spirulina)

³ tuloksista on poistettu arveluttavan pienet arvot

⁴ Mn sonnan pitoisuuksia puuttui jaksolta 1, jolloin sulavuutta ei voitu laskea

6. Tulosten tarkastelu

6.1. Rehujen ja ruokintojen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet

Kokeessa 1 oli käytössä ensimmäisen sadon nurmisäilörehu ja rehuseos, jossa puolet oli nurmirehua ja puolet härkäpapu-kevätehnäkokoviljasäilörehua. Kivennäisaineiden pitoisuudet nurmisäilörehussa ja härkäpapusäilörehussa vastasivat pääosin keskimääräisiä arvoja kotimaisissa rehutaulukoissa (Luke 2019). Nurmisäilörehun rautapitoisuus oli kaksi kertaa korkeampi kuin keskimäärin suomalaisissa nurmirehuissa ja mangaanipitoisuus oli vain puolet keskiarvoista. Rehuseoksessa huomattiin härkäpavun vaikutus, sillä härkäpapusäilörehu sisälsi enemmän kalsiumia ja kuparia kuin tavallinen nurmisäilörehu. Toisaalta rautaa, fosforia ja mangaania puhtaassa härkäpapusäilörehussa oli vähemmän kuin nurmisäilörehussa. Vehnäkokoviljasäilörehu sisältää seleeniä huomattavasti vähemmän (90 %) kuin nurmisäilörehu (Luke 2019), mikä osittain selittää seosrehun pienempää seleenipitoisuutta. Kokeessa vehnän osuus härkäpapusäilörehusta oli n 10 % (Lamminen ym. 2016) eli sen vaikutus jäi pieneksi.

Kokeessa 2 oli käytössä toisen sadon nurmisäilörehu. Säilörehun kivennäis- ja hivenainekoostumus vastasi rehutaulukkoarvoja (Luke 2019) muuten, mutta ei raudan ja seleenin osalta. Rautaa oli miltei kaksinkertaisesti keskiarvoihin nähden, samoin kuin kokeen 1 säilörehussa. Rauta on reaktiivinen helposti kontaminoitua hivenaine (NRC 2005). Rautaa on voinut irrota työvälineistä näytteidenoton, rehunteon tai laboratorioanalyysien yhteydessä. Seleeniä puolestaan oli vain kymmenesosa keskimääräisistä arvoista. Seleenilannoitus vaikuttaa seleenin pitoisuuteen nurmirehussa (Eurola ym. 2016). Opetus- ja tutkimustilan peltolohkolle, jolta kokeessa käytetty nurmirehu oli kerätty, ei kyseisenä vuonna käytetty seleenilannoitetta.

Kokeen 2 rypsiroheen ja härkäpavun siementen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet olivat hyvin linjassa sekä kansallisten että eurooppalaisten rehutaulukkoarvojen kanssa (INRA-CIRAD-AFZ 2019, Luke 2019). Rypsin rautapitoisuus oli kokeessa puolta pienempi kuin kansalliset tai eurooppalaiset rehutaulukkoarvot antoivat odottaa. Seleenin pitoisuus oli puolet pienempi kuin eurooppalaisissa rehutaulukoissa, mutta hyvin linjassa kotimaisten seleenin arvojen kanssa. Härkäpapu sisälsi 30 % enemmän kuparia kuin vertailuarvot, mutta vastasi muiden hivenaineiden osalta hyvin kotimaisia rehutaulukkoarvoja.

Kokeessa 2 käytettiin seosrehuruokintaa, jossa kaikki ruokinnan komponentit sekoitettiin samaan seokseen. Koerehut erosivat toisistaan vain hieman ja rehujen suhteellisten osuuksien oletettiin

pysyvän samoina riippumatta eläimen syönnistä. Lehmät ovat kuitenkin hyviä valikoimaan seosrehusta haluamansa osat (Miller-Cushon ja DeVries 2017), joten todennäköisesti lehmien syömä rehu ei ole ollut koko ajan koostumukseltaan samanlaista. Valikointi on voinut vaikuttaa kivennäis- ja hivenaineiden saantiin.

Kivennäis- ja hivenainepitoisuudet määritettiin ICP-analyysillä, jota edelsi mikroaaltomärkäpoltto. ICP-menetelmä toimi kokeissa 1 ja 2 testinäytteiden perusteella kuten pitääkin, mutta märkäpoltossa oli ongelmia. Kivennäisaineiden saantoprosentit verrattuna BCR heinäsertifikaattiin (Taulukko 18) jäivät molybdeenilla ja sinkillä pieniksi. Molybdeenille ei laskettu saantoa tai sulavuutta, koska rehuista puuttui myös analyysituloksia sen lisäksi, että rehujen pitoisuudet eivät olleet luotettavia heinäsertifikaatin mukaan. Sinkin saanto ja sulavuus saatiin laskettua vain kokeen 2 tuloksista.

Taulukko 18 Kivennäis- ja hivenaineiden BCR-heinäsertifikaatin saantoprosentit ICP-analyysissä kokeissa 1 ja 2

	Keskiarvo	Keskihajonta	Min	Max	BCR- heinäsertifikaatti keskiarvo	Saanto %
Kivennäisaineet						
Ca	6,10	0,26	5,63	6,50	6,4	95,3
K	29,8	1,87	26,9	35,1	33,8	88,1
Mg	1,33	0,065	1,23	1,51	1,45	91,8
P	2,30	0,23	1,87	2,78	2,36	97,5
S	2,92	0,24	2,59	3,81	3,16	92,4
Hivenaineet						
Cu	9,16	0,69	7,98	10,9	10	91,5
Fe	97,2	9,84	80,5	114	114	85,3
Mn	66,4	3,41	58,8	72,1	72	92,2
Mo	0,54	0,27	0,01	0,89	1	53,5
Zn	24,6	4,69	14,7	32,9	32,1	76,7

Lehmät saivat juoda molemmissa kokeissa vapaasti vettä. Juomaveden määrää tai laatua ei mitattu tai analysoitu kokeiden aikana. Eläinten juomavesi oli Helsingin seudun ympäristöpalveluiden (HSY) tuottamaa talousvettä. HSY:n omien vesianalyysien mukaan Viikin talousvesi sisälsi vuonna 2018 esimerkiksi kuparia 1,9 µg/l, rautaa <20 µg/l ja magnesiumia 1,8 mg/l (HSY 2019). Näitä tai kokeiden suorittamisen aikaan vallinneita pitoisuuksia ei ole otettu laskennassa huomioon, mikä voi aiheuttaa virhettä tuloksiin.

6.2. Kivennäis- ja hivenaineiden saanti

Kokeessa 1 kivennäis- ja hivenaineiden saannit eivät juuri eronneet eri nurmirehujen välillä. Väkirehun raakavalkuaispitoisuus, eli rypsin osuus täysrehusta vaikutti enemmän kivennäis- ja hivenaineiden saantiin kuin käytetty säilörehu. Seleenin saanti oli ainoa, jolla oli tilastollisesti erittäin merkitsevä ero saanneissa nurmi- ja nurmi-härkäpapusäilörehujen välillä. Seleenin saanti oli 17 % suurempaa nurmisäilörehuun kuin säilörehuseokseen perustuvalla ruokinnalla. Tulos oli odotusten mukainen, koska nurmisäilörehudieetit sisälsivät 18 % enemmän seleeniä kuin nurmi-härkäpapudieetit.

Kokeessa 2 härkäpavun siemen pienensi kaikkien muiden kivennäis- ja hivenaineiden saantia paitsi kuparin ja sinkin verrattuna rypsirouhedieetteihin. Kivennäis- ja hivenaineista eniten pienenevät magnesiumin ja rikin saannit (13 %). Tämä on linjassa koedieettien kivennäis- ja hivenainepitoisuuksien kanssa. Härkäpapudieettien kuparipitoisuus oli 11 % suurempi kuin rypsidieettien, mutta pitoisuus ei ollut vielä haitallisen korkea lypsylehmän ruokinnassa (Luke 2019). Lammas on herkempi kuparimyrkytykselle kuin nauta (Suttle 2010) ja jo 10-20 g/kg ka pitoisuus kuparia rehussa voi aiheuttaa kuparimyrkytyksen, jos rehun molybdeenipitoisuus on pieni (Luke 2019). Korkean kuparipitoisuuden takia härkäpapua on käytettävä harkiten lampaan ruokinnassa.

Kokeessa 2 kivennäisrehu sisälsi kaikkia muita kivennäis- ja hivenaineita, paitsi kaliumia, fosforia, rikkiä ja molybdeenia. Kivennäisrehu sekoitettiin aperehun sekaan ja lehmien saama kivennäisrehun määrä riippui kivennäisrehun pitoisuudesta appeessa ja appeen kokonaissyönnistä. Vaikka kivennäisrehu sisälsi suuret pitoisuudet kivennäis- ja hivenaineita, lehmät saivat kivennäisrehusta alle puolet dieetin kivennäisaineista (Taulukko 19). Ainoastaan seleeniä lehmät saivat huomattavan suuren osan (71 %) puhtaasti kivennäisrehusta.

Taulukko 19 Kivennäis- ja hivenaineiden saanti kivennäisrehusta %-osuutena kokonaissaannista kaikista ruokinnoista kokeessa 2. Arvot laskettu koeaineiston lehmäkohtaisista havainnoista.

	Keskiarvo %	Minimi %	Maksimi %	Keskihajonta %
Kivennäisaineet				
Ca	37	33,1	41,2	2,33
K	0,04	0,03	0,04	0,002
Mg	28	25,0	31,6	2,00
P	0,04	0,04	0,05	0,002
S	0,32	0,27	0,38	0,031
Hivenaineet				
Cu	42	36,7	45,7	2,85
Fe	12	10,4	13,3	0,87
Mn	15	13,2	18,0	1,29
Mo	0,19	0,12	0,26	0,052
Se	71	62,6	72,9	3,02
Zn	30	28,0	32,6	1,28

Kokeen 2 nurmisäilörehu ei sisältänyt käytännössä lainkaan seleeniä, koska nurmilohkoja, joilta rehu oli korjattu, ei ollut kyseisenä vuonna lannoitettu seleenipitoisella lannoitteella. Seleeniä tuli kuitenkin kaikista muista rehuista hieman, mikä nosti yhdessä kivennäisrehun kanssa dieettien seleenin kokonaispitoisuudeksi 0,3 mg/kg ka. Lypsylehmä tarvitsee seleeniä 0,1 mg/kg ka päivässä (Luke 2019) ja myrkyllinen pitoisuus seleeniä on jo 5,0 mg/kg ka (NRC 2005). Nurmi on tehokas ottamaan liukoista seleeniä maasta (Seppänen 2014) ja seleenin saanti on suurempaa nurmirehusta kuin teollisesti tuotetusta seleenihivasta (Séboussi ym. 2016). Siksi nurmirehu on tehokkaampi seleenin lähde kuin kivennäisrehut. Seleenipitoista kivennäisrehua syödessä on tiedettävä muiden rehukomponenttien seleenipitoisuudet, jotta eläimet eivät saa liikaa seleeniä. Toisaalta jos nurmea ei ole seleenilannoitettu korjuuvuonna, on tärkeää huolehtia riittävästä seleenin saannista kivennäisrehuissa. Kasvit siirtävät seleeniä melko heikosti siemeniin, minkä takia siemenkasvien seleenipitoisuudet ovat pienempiä kuin koko kasvustona korjatussa nurmessa (Seppänen 2014).

Spirulina pienensi kokeessa 2 seosrehun syöntiä (Lamminen ym. IN PRESS) ja pienensi kivennäis- ja hivenaineiden saantia. Spirulina-levän oli todettu pienentävän rehun maittavuutta myös erillisruokinnassa (Lamminen ym. 2019), jolloin lehmät lisäsivät säilörehun syöntiä leväruokinnalla ja vähensivät väkirehun syöntiä. Rypsin korvaaminen härkävavulla ei vaikuttanut syöntiin. Härkävavun todettiin lisäävän kuiva-aineen ja orgaanisen aineen sulavuutta väkirehun

raakavalkuaispitoisuuden ollessa suuri, mutta pienentävän maitotuotosta ja EKM-tuotosta rypsiin verrattuna (Puhakka ym. 2016). Sama voitiin todeta myös tämän kokeen perusteella.

Opetus- ja tutkimustilan navetassa oli käytössä sinkityt rautakalusteet parsissa ja karsinoissa. Kalusteista on voinut irrota metalli-ioneja rehu- ja sontanäytteisiin näytteidenoton yhteydessä tai jos eläimet ovat nuolleet kalusteita. Raudan ja sinkin tulokset ovat voineet vääristyä kontaminaation seurauksena, mutta kontaminaation vaikutusta ei ollut mahdollista arvioida numeerisesti tulosten laskennassa. Raudan pitoisuudet rehuissa olivat molemmissa kokeissa yli kaksinkertaiset kotimaisiin saantisuosituksiin nähden (Luke 2019), mutta pitoisuudet eivät kuitenkaan olleet vaarallisen korkeita eläimille ((EY) N:o 1334/2003). Sinkin pitoisuudet olivat hyvin lähellä saantisuosituksia kokeessa 2 (Luke 2019).

6.3. Kivennäis- ja hivenaineiden sulavuudet

Sulavuuden laskentaa varten tarvittiin sonnan kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuudet. Sonnan pitoisuudet olivat dieettien kivennäisainepitoisuuksiin suhteutettuna samaa suuruusluokkaa, mitä Gustafson (2010) oli saanut heinä- ja säilörehudieeteillä.

Sulavuudet eivät juurikaan eronneet eri koedieettien välillä kokeissa 1 ja 2. Kokeiden välillä sulavuudet erosivat hivenaineiden ja magnesiumin osalta. Magnesiumin sulavuuden on todettu olevan keskimäärin 11-37 %, tyypillisimmin 20-30 % (Weiss 2004, Goff 2018). Kokeessa 1 magnesiumin sulavuus oli keskimäärin 10,2 % ja kokeessa 2 keskimäärin 29 %. Kaliumin tiedetään heikentävän magnesiumin imeytymistä (Weiss 2004, Suttle 2010, Goff 2018), mutta kokeiden välillä ei ollut eroa dieettien kaliumpitoisuuksissa. Myös proteiinit heikentävät magnesiumin sulavuutta (Suttle 2010). Kokeen 2 raakavalkuaisen saanti oli jopa hieman suurempi kuin kokeessa 1, joten tämä ei selitä eroa magnesiumin sulavuudessa (Termonen 2015, Tarsia 2016). Kokeen 2 orgaanisen aineen ja kuiva-aineen sulavuudet olivat hieman paremmat kuin kokeessa 1, mikä voi selittää osaa paremmista sulavuuksista kokeessa 2.

Kuparin sulavuus on keskimäärin <1,0-10 % (Suttle 2010). Kokeessa 2 kuparin sulavuus oli lähellä kirjallisuuden keskiarvoja (11,8 %), mutta kokeessa 1 sulavuus jäi keskimäärin negatiiviseksi (-9,4 %), eli sontaan eritettiin enemmän kuparia kuin mitä ruokinnasta saatiin. Kuparin sulavuuteen vaikuttavat molybdeenin ja rikin pitoisuudet (Spears 2003). Molybdeenista ei ollut saatavilla pitoisuustietoja kuin säilörehujen osalta ja niiden perusteella molybdeenia olisi ollut rehuissa

enemmän kokeessa 2, missä kuparin sulavuus oli kirjallisuusviitteiden mukainen. Lisäksi Spears (2003) toteaa, ettei molybdeeni yksin riitä heikentämään kuparin sulavuutta, jos rikkiä on vain vähän saatavilla. Kokeiden välillä dieettien rikkipitoisuudessa ei ollut merkittävää eroa. Raudan, sinkin ja mangaanin tiedetään myös heikentävän suurina pitoisuuksina kuparin imeytymistä (Spears 2003, NRC 2005, Goff 2018), mutta kokeiden välillä ei ollut suuria eroja dieettien rauta- tai mangaanipitoisuuksissa. Sinkin pitoisuudet tiedettiin vain kokeesta 2 ja ne eivät olleet tavanomaisesta poikkeavia suomalaisiin taulukkoarvoihin verrattuna (Luke 2019).

Raudan sulavuus vaihtelee 2-20 %:n välillä (NRC 2005). Raudan sulavuus oli kokeessa 1 keskimäärin 43 %, mikä on kirjallisuuteen nähden korkea sulavuuden arvo. Toisaalta samassa kokeessa kuparin sulavuus oli poikkeuksellisen pieni ja näiden kahden tiedetään vaikuttavan toistensa sulavuuteen (NRC 2005, Goff 2018). Kuparin ja raudan pitoisuudet koedieeteissä eivät kuitenkaan eronneet kokeiden välillä, joten kuparin heikko imeytyminen tuskin selittää kokonaan raudan poikkeuksellisen tehokasta imeytymistä, kun kokeessa 2 raudan sulavuus oli kirjallisuuden mukainen (keskimäärin 12,4 %). Koe-eläimet olivat molemmissa kokeissa Ayrshire-rotua, joten rotu ei voi olla vaikuttava tekijä (Du ym. 1996). Sonnan rautapitoisuuksissa oli selkeä ero kokeiden välillä. Kokeessa 1 sonnan rautapitoisuus oli keskimäärin 542 mg/kg ka, kun taas kokeessa 2 sonnan rautapitoisuus oli 796 mg/kg ka. Rautaa oli koedieeteissä suurin piirtein yhtä paljon. Kuiva-aineen ja orgaanisen aineen sulavuus eivät selitä eroja sonnan erittyvän raudan pitoisuuksissa, koska kokeessa 2 kuiva-aineen ja orgaanisen aineen sulavuudet ovat hieman (6 %) paremmat kuin kokeessa 1. Sontanäytteet kerättiin ja esikäsiteltiin molemmissa kokeissa samalla tavalla ja samoilla välineillä, joten näytteenotto tai esikäsitely eivät selitä eroja. BCR-heinäsertifikaatin avulla määritetty ICP-analyysin saantoprosentti jäi raudan kohdalla 85 %:iin, joten täysin luotettavina sonnan ja rehujen pitoisuustuloksia ei voida pitää. Kokeen 1 tuloksista ei ollut löydettävissä selkeää syytä miksi sulavuuksissa oli useita yksittäisiä poikkeavan pieniä sulavuuden arvoja kalsiumin, magnesiumin, kuparin, raudan, mangaanin ja seleenin kohdalla.

Mangaanin sulavuus erosi kokeiden välillä samaan tapaan kuin kuparin sulavuus. Kokeen 1 mangaanin sulavuus oli keskimäärin -4,7 % ja kokeen 2 sulavuus oli keskimäärin 27 %. Kirjallisuuden mukaan mangaanin sulavuus vaihtelee <1-20 % välillä riippuen mangaanin pitoisuudesta pötsinesteessä (Suttle 2010, Goff 2018). Mangaanin pitoisuus koedieeteissä oli keskimäärin 24 % suurempi kokeessa 2 kuin kokeen 1 koedieeteissä. Tulos ei ole johdonmukainen sen kanssa, että mangaanin imeytymisen pitäisi heikentyä, kun sitä on enemmän tarjolla pötsinesteessä (NRC 2005).

Seleenin sulavuus oli kokeessa 1 keskimäärin 33 % ja kokeessa 2 keskimäärin 23 %. Kokeen 1 säilörehu sisälsi seleeniä, toisin kuin kokeessa 2 käytetty säilörehu. Kuten Séboussi ym. (2016) totesivat, seleeni on paremmin imeytyvässä muodossa säilörehuun sitoutuneena kuin kivennäisrehuista saatuna. Kokeessa 2 seleenistä 71 % oli peräisin kivennäisrehusta, mikä saattoi heikentää seleenin sulavuutta verrattuna kokeessa 1 nurmirehusta saatuun seleeniin. Toisaalta kokeessa 2 käytetyn kivennäisrehun seleenistä puolet on ilmoitettu olevan helpommin imeytyvää orgaanista seleeniä (Seleeni-E-Melli TMR-kivennäinen, Raisioagro Oy). Kokeiden 1 ja 2 sulavuudet vastasivat hyvin aikaisemmissa tutkimuksissa saatuja sulavuustuloksia, sillä Harrisonin ym. (1984) tutkimuksissa seleenin kokonaissulavuus vaihteli 17-50 %:n välillä ja Spears (2003) raportoi epäorgaanisen seleenin sulavuudeksi noin 34 %. Ivancic ja Weiss (2001) saivat seleenin kokonaissulavuudeksi 54,7 %.

7. Johtopäätökset

Tutkielman tavoitteena oli verrata härkäpapusäilörehua ja härkäpavun siementä kivennäis- ja hivenaineiden lähteenä nurmisäilörehuun ja rypsirouheeseen lypsylehmän ruokinnassa. Tulosten perusteella härkäpapusäilörehu ei eroa oleellisesti nurmisäilörehusta kivennäis- ja hivenaineiden lähteenä. Sen sijaan härkäpavun siemen on heikompi kivennäis- ja hivenaineiden lähde kuin rypsirouhe, lukuun ottamatta kuparia. Härkäpavun siemen sisältää enemmän kuparia kuin rypsirouhe ja sen saanti oli suurempi härkäpapudieeteillä kuin rypsidieeteillä. Lypsylehmällä hieman totuttua suurempi kuparin saanti väkirehuista ei ole vaarallista, mutta lampaan ruokinnassa härkäpapu voi olla ongelmallinen rehuraaka-aine, koska lammas on nautaa herkempi kuparimyrkytykselle.

Dieettien kivennäis- ja hivenainepitoisuuksien erot härkäpavun ja rypsirouheen välillä eivät olleet niin suuria, että niillä olisi vielä käytännön merkitystä lypsylehmän ruokinnassa. Rypsin korvaaminen härkäpavulla osittain tai kokonaan ruokinnassa ei tämän tutkimuksen perusteella heikennä kivennäis- ja hivenaineiden saantia niin paljon, että se vaikuttaisi eläimen hyvinvointiin tai tuotokseen. Kivennäisruokinnasta on muistettava huolehtia käytetystä valkuaisrehusta riippumatta, koska kummankaan valkuaisrehun kivennäis- ja hivenainepitoisuudet eivät riitä kattamaan eläimen tarpeita.

Härkäpapu ei vaikuttanut tarkasteltujen kivennäis- ja hivenaineiden sulavuuteen. Härkäpapua voi sisällyttää ruokintaan ilman pelkoa kivennäis- ja hivenaineiden sulavuuden heikkenemisestä. Voidaankin todeta, että härkäpavun siemen on kivennäis- ja hivenaineiden osalta turvallinen vaihtoehto lypsylehmän valkuaisruokintaan, koska se ei eroa merkittävästi yleisesti käytetystä rypsiästä. Myöskään härkäpapu-kokoviljasäilörehun kivennäis- ja hivenainepitoisuudet tai –sulavuudet eivät eroa nurmisäilörehun pitoisuuksista tai sulavuuksista.

Lähteet

- Arslan, H.H., Tarhan, D., Cenesiz, S., Alkan, F.A., Ozcan, U., Arslan, E.T., Barutcu, U.B. & Or, M.E. 2018. Evaluation of Trace Element Levels and Antioxidant Metabolism in Cattle with Cutaneous Papillomatosis. *Acta Scientiae Veterinariae* 46: 5.
- Du, Z., Hemken, R.W. & Harmon, R.J. 1996. Copper Metabolism of Holstein and Jersey Cows and Heifers Fed Diets High in Cupric Sulfate or Copper Proteinate¹. *Journal of Dairy Science* 79: 1873-1880.
- EY 2003. Euroopan komission asetus (EY) N:o 1334/2003. Viitattu 18.4.2019 Saatavissa internetissä: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/ALL/?uri=CELEX:32003R1334>
- Goff, J.P. 2018. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal of Dairy Science* 101: 2763-2813.
- Gustafson, G.M. 2000. Partitioning of Nutrient and Trace Elements in Feed among Milk, Faeces and Urine by Lactating Dairy Cows. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science* 50: 111-120.
- Harrison, J.H. & Conrad, H.R. 1984. Effect of Selenium Intake on Selenium Utilization by the Nonlactating Dairy Cow^{1, 2}. *Journal of Dairy Science* 67: 219-223
- Hartman, S.J., Genther-Schroeder, O.N. & Hansen, S.L. 2018. Comparison of trace mineral repletion strategies in feedlot steers to overcome diets containing high concentrations of sulfur and molybdenum. *Journal of Animal Science* 96: 2504-2515.
- HSY 2019. Keskimääräinen veden laatu Pitkäkosken ja Vanhankaupungin vedenpuhdistuslaitoksilla 1.1. - 31.12.2018. Päivitetty: 11.1.2019. Viitattu: 12.2.2019. Saatavissa internetistä: https://www.hsy.fi/fi/asiantuntijalle/vesihuolto/vedenlaatu/Documents/Veden_laatu_4_2018.pdf.
- Huida, L., Väätäinen, H. & Lampila, M. 1986. Comparison of dry matter contents in grass silages as determined by oven drying and gas chromatographic water analysis. Comparison of dry matter

contents in grass silages as determined by oven drying and gas chromatographic water analysis. *Annales Agriculturae Fenniae* 25: 215-230.

INRA-CIRAD-AFZ 2019. Feed tables. Composition and nutritive values of feeds for cattle, sheep, goats, pigs, poultry, rabbits, horses and salmonids. 2019. Viitattu: 01.02.2019 Saatavissa internetistä: <https://www.feedtables.com/>.

Ivancic, J. & Weiss, W.P. 2001. Effect of Dietary Sulfur and Selenium Concentrations on Selenium Balance of Lactating Holstein Cows¹. *Journal of Dairy Science* 84: 225-232.

Jarrige, R. 1989. Ruminant nutrition: recommended allowances and feed tables. Paris: INRA. 389 s.

Knowles, S.O., Grace, N.D., Wurms, K. & Lee, J. 1999. Significance of Amount and Form of Dietary Selenium on Blood, Milk, and Casein Selenium Concentrations in Grazing Cows. *Journal of Dairy Science* 82: 429-437.

Kopponen, S-K. 2018. Rypsin, härkäpavun ja Spirulina platensis-mikrolevän vaikutus fosforin hyväksikäyttöön maidontuotannossa. Maisterintutkielma, Helsingin yliopisto. Viitattu 1.4.2019. saatavilla internetistä: <http://urn.fi/URN:NBN:fi:hulib-201806122428>

Lamminen, M., Kokkonen, T., Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Termonen, T., Korhonen, P., Vanhatalo, A. & Jaakkola, S. 2016. Härkäpapusäilörehun ja rypsitason vaikutukset maitotuotokseen ja ravintoaineiden hyväksikäyttöön. Maataloustieteen Päivät 2016 (Verkkójulkaisu) Saatavilla internetistä: https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/232503/Lamminen_et_al_Harkapapusailorehun_ja_rypsitason.pdf?sequence=1

Lamminen, M., Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Kokkonen, T., Simpura, I., Jaakkola, S. & Vanhatalo, A. 2017. Comparison of microalgae and rapeseed meal as supplementary protein in the grass silage based nutrition of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 234: 295-311.

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.

- Lamminen, M., Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Kokkonen, T., Vanhatalo, A. & Jaakkola, S. The effect of partial substitution of rapeseed meal and faba beans by *Spirulina platensis* microalgae on milk production, nitrogen utilization and amino acid metabolism of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* (IN PRESS).
- Luke 2019. Rehutaulukot ja ruokintasuositukset. Päivitetty: 30.1.2019 2019. Saatavissa internetistä: <http://www.luke.fi/rehutaulukot>.
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A. & Wilkinson, R.G. 2011. *Animal nutrition*. 7th ed. painos. Harlow, England: Pearson. 692 s.
- Miller-Cushon, E.K. & DeVries, T.J. 2017. Feed sorting in dairy cattle: Causes, consequences, and management. *Journal of Dairy Science* 100: 4172-4183.
- Miltimore, J.E. & Mason, J.L. 1971. Copper to Molybdenum Ratio and Molybdenum and Copper Concentrations in Ruminant Feeds. *Canadian Journal of Animal Science* 51: 193-200.
- Nickel, A., Kottra, G., Schmidt, G., Danier, J., Hofmann, T. & Daniel, H. 2009. Characteristics of transport of selenoamino acids by epithelial amino acid transporters. *Chemico-Biological Interactions* 177: 234-241.
- NRC 2005. *Mineral tolerance of animals*. 2nd rev. ed. Washington, DC: National Academies Press. 496 s.
- Nylander, H. & Cajander, E. 1901. *Lyhyt lypsykarjanhoidon oppikirja: (maataloudellista alkeisopetusta varten)*. 2. painos. Helsinki: Otava. 170 s.
- Palmio, A., Sairanen, A., Kuoppala, K. & Rinne, M. 2016. Härkäpapusäilörehu lypsylehmien ruokinnassa. *Suomen Maataloustieteellisen Seuran Tiedote*: 1-6.
- Perrin, D.J., Schiefer, H.B. & Blakley, B.R. 1990. Chronic copper toxicity in a dairy herd. *The Canadian Veterinary Journal* 31: 629-632.
- Puhakka, L., Jaakkola, S., Simpura, I., Kokkonen, T. & Vanhatalo, A. 2016. Effects of replacing rapeseed meal with faba bean at 2 concentrate crude protein levels on feed intake, nutrient

digestion, and milk production in cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science* 99: 7993-8006.

Pyörälä, S. & Tiihonen, T. 2005. Nautojen sairaudet 2005. Helsingin yliopisto, Eläinlääketieteellinen tiedekunta. Saatavilla internetistä: <http://hdl.handle.net/1975/544>

Schwab, C.G., Bozak, C.K., Whitehouse, N.L. & Mesbah, M.M.A. 1992. Amino Acid Limitation and Flow to Duodenum at Four Stages of Lactation. 1. Sequence of Lysine and Methionine Limitation1, 2. *Journal of Dairy Science* 75: 3486-3502.

Séboussi, R., Tremblay, G.F., Ouellet, V., Chouinard, P.Y., Chorfi, Y., Bélanger, G. & Charbonneau, É. 2016. Selenium-fertilized forage as a way to supplement lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 99: 5358-5369.

Seppänen, M. 2014. Seleenin kierto peltoekosysteemissä. Tutkimushankkeen loppuraportti. Päivitetty: 31.12.2014 2014. Viitattu: 01.04.2019 Saatavissa internetistä: https://www.helsinki.fi/sites/default/files/atoms/files/seleenin_kierto_peltoekosysteemissa_loppuraportti_final1.pdf.

Spears, J.W. 2003. Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. *The Journal of Nutrition* 133: 1506-1509.

Spears, J.W., Lloyd, K.E. & Fry, R.S. 2011. Tolerance of cattle to increased dietary sulfur and effect of dietary cation-anion balance. *Journal of Animal Science* 89: 2502-2509.

Stamm, M. 2016. Micromineral supply in domestic farm animals. Project report in Micronutrients work package in Sustainable intensification project. Department of Agricultural Sciences. 27 s.

Suttle, N.F. 2010. Mineral nutrition of livestock. 4th ed. painos. Wallingford, Oxfordshire, UK; Cambridge, Mass.: CAB International. 544 s.

Tarsia, E. 2016. Rypsin, härkävavun ja *Spirulina platensis* -mikrolevän vaikutukset lypsylehmien valkuaisen hyväksikäyttöön. Maisterintutkielma, Helsingin yliopisto. Viitattu 1.4.2019 Saatavilla internetistä: <http://urn.fi/URN:NBN:fi:hulib-201606092298>

- Termonen, T. 2015. Härkäpapu-kevätevehnäsäilörehun ja rypsin määrän vaikutus lypsylehmän maitotuotokseen ja aineenvaihduntaan. Maisterintutkielma, Helsingin yliopisto. Viitattu 1.4.2019 Saatavilla internetistä: <http://urn.fi/URN:NBN:fi:hulib-201506101434>
- Van Keulen, J. & Young, B. 1977. Evaluation of Acid-Insoluble Ash as a Natural Marker in Ruminant Digestibility Studies 1, 2. *Journal of Animal Science* 44: 282-287.
- Ward, J.D., Spears, J.W. & Kegley, E.B. 1996. Bioavailability of Copper Proteinate and Copper Carbonate Relative to Copper Sulfate in Cattle¹, 2. *Journal of Dairy Science* 79: 127-132.
- Weiss, W.P. 2004. Macromineral Digestion by Lactating Dairy Cows: Factors Affecting Digestibility of Magnesium. *Journal of Dairy Science* 87: 2167-2171.
- Weiss, W.P. 2005. Selenium sources for dairy cattle. Selenium sources for dairy cattle. Tri-State Dairy Conference, Allen County War Memorial Coliseum, Ft. Wayne, IN. USA, May. s. 2-3.
- Wyss, U., Ineichen, S., Frey, H.J., Schmid, H., Akert, F. & Reidy, B. 2018. Comparison of nutrient and mineral content of herbage from pasture and fresh indoor feeding. Teagasc, Animal & Grassland Research and Innovation Centre. Fermoy: 384-386.

Liitteet

Liite 1 ICP analyysissä käytetyt alkuainestandardit ja aallonpituudet

Taulukko 20 Määritellyt alkuaineet ja käytetyt aallonpituudet ICP-analyysissä

Alkuaine	Aallonpituudet (nm); Aksiaalinen (AKS)/Radiaalinen (RAD) mittaus	Määrittysraja (µg/l), jos laitevalmistaja on ilmoittanut
Ca	184,006 AKS 315,887 RAD 373,690 RAD 422,673 RAD	
Cu	204,379 AKS, RAD 324,754 AKS, RAD 327,396 AKS, RAD	0,3
Fe	238,204 RAD 239,562 RAD 259,940 RAD	0,1
K	766,490 RAD 769,896 RAD	0,1 0,3
Mg	279,553 RAD 280,270 RAD 285,213 RAD	0,002
Mn	257,610 AKS	0,03
P	177,495 AKS 185,942 AKS	0,5
S	180,731 RAD 182,034 RAD	
Zn	206,200 AKS	0,07

Taulukko 21 ICP-analyysissä käytetyt alkuainestandardit

Alkuaine	Standardi	Standardin vahvuus
Fe, Ca, K, Mg, Na, Co, Cu, Mn, Zn	1000 mg/l HNO ₃ -matriisissa (Certipur ICP multi-element standard solution IV, Merck KGaA, Darmstadt, Saksa)	0,01-200 mg/l 12 eri tasoa
Mo	1000 mg/l HCL-matriisissa (Romil, PrimAg-sertifioitu referenssiaine, Cambridge, Iso-Britannia)	0,01-1 mg/l 5 eri tasoa
P	10 000 mg/l H ₂ O-matriisissa (AccuStandard, New Haven, USA)	0,01-1 mg/l 5 eri tasoa
S	10 000 mg/l HNO ₃ -matriisissa (Romil PrimAg-plus sertifioitu referenssiaine, Cambridge, Iso-Britannia)	0,1-50 mg/l 5 eri tasoa