

**HÄRKÄPAVUN TEOLLISEN PROSESSOINNIN JA
METIONIINITÄYDENNYKSEN VAIKUTUS LYPSYLEHMIEN
MAITOTUOTOKSEEN JA MAIDON KOOSTUMUKSEEN**

Vappu Tauriainen
Maisterintutkielma
Helsingin yliopisto
Maataloustieteiden osasto
Kotieläinten ravitsemustiede
2020

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Osasto – Sektion – Department Maataloustieteiden osasto
Tekijä/Författare – Author Vappu Tauriainen		
Työn nimi / Arbetets titel – Title Härkäpavun teollisen prosessoinnin ja metioniinitäydennyksen vaikutus lypsylehmien maitotuotokseen ja maidon koostumukseen		
Oppiaine / Läroämne – Subject Kotieläinten ravitsemustiede		
Työn laji/Arbetets art – Level Maisterintutkielma	Aika/Datum – Month and year Syyskuu 2020	Sivumäärä/ Sidoantal – Number of pages 76 s.
Tiivistelmä/Referat – Abstract <p>Härkäpapu (<i>Vicia faba</i>) on potentiaalinen kotimainen täydennysvalkuaisrehu, ja sen siemenet sisältävät runsaasti raakavalkuaista ja tärkkelystä. Härkäpavun valkuaisessa on kuitenkin vain vähän metioniinia ja se hajoaa pötsissä nopeasti, mikä heikentää härkäpavun ruokinnallista arvoa. Valkuaisen hajoamisnopeutta voidaan mahdollisesti hidastaa härkäpavun teollisella lämpö- ja höyrykäsittelyllä. Tämän kokeen tarkoituksena oli tutkia, voidaanko teollisella prosessoinnilla ja ruokinnan metioniinitäydennyksellä vaikuttaa lypsylehmien maitotuotokseen ja maidon koostumukseen.</p> <p>Tutkimus toteutettiin Helsingin yliopiston Viikin opetus- ja tutkimustilan navetassa 6.1.2018 – 21.4.2018. Kokeessa oli mukana 5 ayrshirerotuista pötsifistelöityä lypsylehmää. Koemalli oli 5 x 5 latinalainen neliö kolmen viikon koejaksoin. Koekäsittelyinä olivat isonitrogeeniset valkuaisruokinnat rypsirouhe (RR), härkäpapujauho (HJ), teollisesti käsitelty härkäpapuruouhe (HR) sekä metioniinillä täydennetyt (juoksutusmahainfuusio 15 g/vrk) härkäpapuruokinnat HJM ja HRM. Lehmät söivät koeseosrehuja vapaasti. Seosrehut pohjautuivat hyvin sulavaan (D-arvo 706 g/kg ka) 1. sadon timotei-nurminatasäilörehuun (<i>Phleum pratense</i> - <i>Schedonorus pratensis</i>). Tutkittavien valkuaisrehujen lisäksi seosrehu sisälsi ohra-kaura -seosta, melassileikettä ja kivennäistä. Väkirehun osuus seosrehujen kuiva-aineesta oli 38 %.</p> <p>Härkäpapuruokinnat (HJ, HJM, HR, HRM) lisäsivät kuiva-aineen syöntiä keskimäärin 1,6 kg/pv rypsirookintaan verrattuna, mutta tällä ei ollut vaikutusta maitotuotokseen, joka oli kokeessa keskimäärin 27,7 kg/pv. Raakavalkuaisen ja tärkkelyksen saannit olivat suuremmat härkäpapuruokinnissa rypsirookintaan verrattuna. Rypsirouhe sisälsi härkäpapua enemmän kokonaisrasvaa, mikä lisäsi kokonaisrasvan saantia rypsirookinnassa. Härkäpapuruokinnat lisäsivät raakavalkuaisen sulavuutta ja maidon valkuaispitoisuutta rypsirookintaan nähden. Härkäpavun teollinen käsittely lisäsi suuntaa antavasti maito- ja laktoosituotosta (HJ, HJM vs. HR, HRM). Sen sijaan metioniinitäydennyksellä ei saatu vastetta maito- tai valkuaisuutokseen (HJ, HR vs. HJM, HRM). Härkäpapuruokinnat lisäsivät maitorasvan tyydyttyneiden <i>de novo</i> -rasvahappojen pitoisuutta ja vähensivät pitkäketjuisten kerta- ja monitydyttymättömien rasvahappojen pitoisuutta rypsirookintaan verrattuna. Ruokinnolla oli hyvin vähän vaikutusta pötsifermentaatioon tai plasman energiametaboliitteihin.</p> <p>Tämän tutkimuksen perusteella härkäpapu oli valkuaisrehuna maittavaa ja se korvasi rypsiä lypsylehmien ruokinnassa vaikuttamatta tuotokseen. Härkäpavun teollinen käsittely lisäsi suuntaa antavasti maitotuotosta. Härkäpapuruokinnat lisäsivät maitorasvan tyydyttyneiden <i>de novo</i> -rasvahappojen pitoisuutta ja vähensivät tyydyttämättömien rasvahappojen pitoisuutta. Metioniinitäydennyksestä ei ollut hyötyä tässä tutkimuksessa.</p>		
Avainsanat – Nyckelord – Keywords härkäpapu, prosessointi, lämpökäsittely, metioniini, infuusio, lypsykarja		
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Maataloustieteiden osasto		
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information Työtä ohjasivat yliopistonlehtori Anni Halmemies-Beauchet-Filleau ja professori Aila Vanhatalo.		

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos — Institution — Department Department of Agricultural Sciences	
Tekijä — Författare — Author Vappu Tauriainen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Effects of industrial processing of faba bean and methionine supplementation on milk yield and milk composition of dairy cows			
Oppiaine — Läroämne — Subject Animal Nutrition			
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis		Aika — Datum — Month and year Syyskuu 2020	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 76 p.
<p>Tiivistelmä/Referat – Abstract</p> <p>Faba bean (<i>Vicia faba</i>) has potential as a domestic supplemental protein feed, as its seeds are rich in crude protein and starch. However, faba bean protein is low in methionine and highly degradable in the rumen, which reduces its nutritional value. The rate of protein degradation can potentially be decreased by industrial heat and steam treatment. The aim of the study was to investigate how feed industrial processing and methionine supplementation can affect the milk yield and milk composition of dairy cows.</p> <p>The study was conducted at the research farm of the University of Helsinki in Viikki from 6.1.2018 to 21.4.2018. Five multiparous Finnish Ayrshire cows with ruminal fistulas participated in the study, which utilized a 5x5 Latin square study design with three-week trial periods. The five experimental treatments consisted of the following isonitrogenous protein feeds: rapeseed meal (RR), milled faba bean (HJ), roasted (industrial heat treatment) faba bean (HR) and methionine-supplemented (15 g/day omasal infusion) faba bean feeds HJM and HRM. The cows were fed TMR (total mixed ratio) ad libitum. TMR was based on first cut timothy and meadow fescue grass silage (D-value 706 g/kg dry matter), including a mixture of barley-oats, sugar beet pulp and a mineral supplement. The share of concentrate in the dry matter of TMR was 38 %.</p> <p>Faba bean feedings (HJ, HJM, HR, HRM) increased dry matter intake by an average of 1.6 kg/day compared to rapeseed feeding, but this had no effect on milk yield, which averaged 27.7 kg/day in the experiment. Crude protein and starch intakes were higher in faba bean feedings compared to rapeseed feeding. Rapeseed meal contained more fat than milled and roasted faba beans, which increased total fat intake in rapeseed feeding. Faba bean feedings increased the digestibility of crude protein and the protein content of milk compared to rapeseed feeding.</p> <p>Roasting of faba beans tended to increase milk and lactose yields (HJ, HJM vs. HR, HRM). However, methionine supplementation had no effect on milk or protein yield (HJ, HR vs. HJM, HRM). Faba bean feedings increased the content of saturated <i>de novo</i> fatty acids in milk fat and decreased the content of long-chain mono- and polyunsaturated fatty acids compared to rapeseed feeding. Feeding had little effect on rumen fermentation or plasma energy metabolites.</p> <p>According to this study, faba beans were palatable as a supplementary protein feed and it was possible to replace rapeseed meal by milled or roasted faba beans without a decrease in total dry matter intake or milk yield. Roasting of faba bean tended to increase milk yield compared to milled faba bean. Faba bean feeds increased the content of saturated <i>de novo</i> fatty acids and reduced the content of unsaturated fatty acids. Methionine supplementation had no effect on milk production in this study.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Faba bean, processing, heat treatment, methionine, infusion, dairy cow			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Department of Agricultural Sciences and Viikki Campus Library			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Supervisors: University Lecturer Anni Halmemies-Beauchet-Filleau and Professor Aila Vanhatalo			

SISÄLLYS

LYHENTEET.....	6
1 JOHDANTO.....	7
2 HÄRKÄPAPU LYPSYLEHMÄN RUOKINNASSA	9
2.1 Härkäpavun koostumus.....	9
2.2 Härkäpavun vaikutus maidontuotantoon ja maidon koostumukseen	12
2.3 Teollisen prosessoinnin vaikutus härkäpavun pötsisulavuuteen	14
3 RUOKINNAN METIONIINITÄYDENNYKSEN VAIKUTUS MAIDONTUOTANTOON	18
4 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET	20
5 AINEISTO JA MENETELMÄT.....	21
5.1 Koejärjestelyt ja koe-eläimet	21
5.2 Rehukomponentit, koerhuseokset ja ruokinta.....	22
5.3 Metioniini-infuusio	24
5.4 Näytteiden keruu ja määritykset	25
5.5 Näytteiden analysointi	27
5.6 Tulosten laskenta ja tilastolliset analyysit	30
6 TULOKSET.....	33
6.1 Rehujen kemiallinen koostumus.....	33
6.2 Rehujen syönti, ravintoaineiden saanti ja ravintoaineiden hyväksikäyttö.....	34
6.3 Maitotuotos ja maidon koostumus	36
6.4 Pötsifermentaatio	41
6.5 Plasman energiametaboliitit.....	41
7 TULOSTEN TARKASTELU	43
7.1 Rehut ja syönti.....	43
7.2 Sulavuus ja pötsikäyminen	45
7.3 Maitotuotos ja maidon pitoisuudet	48
7.4 Maidon rasvahappokoostumus.....	50
7.5 Plasman energiametaboliitit.....	52
8 JOHTOPÄÄTÖKSET	55
KIITOKSET.....	57
LÄHTEET	58

LYHENTEET

AIA happoon liukenematon tuhka

CLA konjugoitu linolihappo

EKM energiakorjattu maito

HJ härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus)

HJM härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus) + metioniini

HR härkäpapuruuhe (teollinen härkäpavun prosessointi)

HRM härkäpapuruuhe (teollinen härkäpavun prosessointi) + metioniini

ka kuiva-aine

ME muuntokelpoinen energia

MRP Maillard-reaktiotuotteet

NDF neutraalidetergenttikuitu

RR rypsirouhe

SEM keskiarvon keskivirhe

TMR total mixed ratio

VFA haihtuvat rasvahapot

1 JOHDANTO

Yksi nykyaikaisen maidontuotannon suurimmista haasteista on valkuaisruokinnan optimointi huipputuottoisille lehmille. Rehun raakavalkuaisen saannin tulee olla riittävä ja aminohappokoostumuksen tasapainoinen, mutta tuotos pyritään saavuttamaan ilman valkuaisyliaruokintaa ja suuria typpipäästöjä. Valkuaisrehu on tiloille huomattava kuluerä, ja hyödyntämättä jäänyt typpi erittyy lehmien sonnan ja virtsan mukana kuormittaen ympäristöä. Lypsylehmä kykenee hyödyntämään rehun raakavalkuaisesta maidontuotantoon vain noin 20–35 % (Chase ym. 2012). Huhtasen ym. (2009) mukaan typen hyväksikäyttöä maidon valkuaisen tuotantoon voidaan parhaiten tehostaa vähentämällä lypsylehmien raakavalkuaisen saantia kansainvälisten ruokintasuositusten (NRC 2001) ohjearvoa pienemmäksi. Riittämätön valkuaisen saanti voi kuitenkin vähentää lehmien kuiva-aineen syöntiä, maitotuotosta ja maidon valkuaisuudesta. Suurin osa rehun valkuaisesta hajoaa pötsissä, ja pötsimikrobit hyödyntävät sen ravintonaan. Maidontuotantoon lehmä käyttää ohutsuolessa imeytyvää osuutta rehuvalkuaisesta ja pötsistä kulkeutuvaa mikrobivalkuaista. Rehun valkuaispitoisuutta on tutkimuksissa onnistuttu pienentämään ilman tuotoksen laskua, jos sen laatua on optimoitu lisäämällä ruokintaan maidontuotantoa ensimmäisenä rajoittavia aminohappoja (Hristov ym. 2015). Valkuaisen hyväksikäyttöä voidaan myös yrittää tehostaa lisäämällä pötsissä hajoamattoman valkuaisen osuutta erilaisilla fysikaalisilla ja kemiallisilla käsittelyillä. Käsittelyiden vaikutukset maidontuotantoon ovat tutkimuksissa olleet vaihtelevia (Ipharraguerre ja Clark 2005).

Täydennysvalkuaisrehujen omavaraisuusaste Suomessa on vain noin 15 % (Kaukovirta-Norja ym. 2015) ja kotimaisessa maidontuotannossa yleisimmät valkuaisrehut ovat rypsin (*Brassica rapa L. ssp.*) tai rapsin (*Brassica napus L. Oleifera*) rouhe ja puriste. Kotimaisia palkokasveja ja elintarviketeollisuuden sivujakeita käytetään myös jonkin verran ruokinnan valkuaisistäydennyksessä. Maailmanlaajuisesti lypsylehmien yleisin valkuaisrehu on soijarouhe, sillä sen suuri raakavalkuaispitoisuus ja ohutsuolisulavuus sopivat hyvin maidontuotantoon (Giallongo ym. 2015). Suomalaisilla tiloilla soijarouhetta ei ole käytetty lypsylehmien rehuissa enää vuoden 2018 jälkeen, kun Valio ja Arla linjasivat maidontuotantonsa soijattomaksi. Soijapavun kasvatusta aiheuttaa ympäristöhaittoja tuottajamaissa, ja kuluttajat suhtautuvat kriittisesti sen käyttöön kotieläinten ruokinnassa.

Rypsirouhe on soveltunut kotimaisissa tutkimuksissa erittäin hyvin lypsylehmien nurmisäilörehupohjaiseen ruokintaan. Kun Huhtasen ym. (2011) tutkimuksessa rypsirouheen avulla lisättiin lehmien raakavalkuaisen saantia yhdellä kilolla, lehmien maitotuotos lisääntyi 3,4 kg/pv. Rypsin ja rapsin yhteenlaskettu viljelyala oli Suomessa vuonna 2019 kuitenkin vain 31 500 ha (Luke Tilastotietokanta 2020), eikä kotimainen rypsin ja rapsin viljely riitä kattamaan täydennysvalkuaisrehujen tarvetta. Tällä hetkellä Suomessa tiloille myytävä rouhe on lähinnä ulkomaista rypsirouhetta, mikä heikentää valkuaisomavaraisuutta ja voi olla myös uhka rehurvallisuudelle. Tuontilaivojen mukana tulleesta rehusta löytyy satunnaisesti salmonellaa, minkä vuoksi rehuerät testataan jo satamassa ja tarvittaessa käsitellään salmonellavapaiksi.

Suomen kotieläintalouden riippuvuutta ulkomaisista valkuaisrehuista voidaan vähentää lisäämällä palkokasvien viljelyä ja käyttämällä niitä kotieläinten rehuksi. Yleisimmin lypsylehmien ruokinnassa käytetään tällä hetkellä hennettä (*Pisum sativum L.*) ja härkäpapua (*Vicia faba L.*). Palkokasvit ovat hyvä vaihtoehto muille valkuaisrehuille, sillä korkean raakavalkuais- ja tärkkelyspitoisuutensa takia ne soveltuvat hyvin lypsylehmien valkuais- ja energiarehuksi (White ym. 2007, Crépon ym. 2010). Etenkin härkäpapu on arvokas valkuaisen lähde, sillä sen siementen raakavalkuaispitoisuus on yleensä 250–330 g/kg ka (Yu 2005, Larsen ym. 2009, Crépon ym. 2010). Härkäpapua viljeltiin Suomessa vuonna 2019 15 200 ha:n alalla (Luke Tilastotietokanta 2020) ja sen viljely on lisääntynyt viimeisen vuosikymmenen aikana merkittävästi. Härkäpavun ruokinnallisen arvon ja ostorehukustannusten vähenemisen lisäksi härkäpavun viljelyssä on monia hyviä puolia. Härkäpapu on potentiaalinen kotimainen täydennysvalkuaisrehu, mutta tutkimustuloksia härkäpavun vaikutuksista maidontuotantoon nurmisäilörehupohjaisessa ruokinnassa on vielä vähän.

2 HÄRKÄPAPU LYPSYLEHMÄN RUOKINNASSA

2.1 Härkäpavun koostumus

Härkäpapua voi syöttää lypsylehmille joko papuina (puituina tai murskesäilöttyinä) tai kokoviljasäilörehuna, ja sitä viljellään joko puhtas- tai seoskasvustona (Syrjälä-Qvist ym. 1984). Härkäpavun siementen valkuaispitoisuus vaihtelee 270–320 g/kg ka välillä (Crépon ym. 2010) ja on yleensä noin 300 g/kg ka, kun taas rypsirouheen valkuaispitoisuus on suomalaisessa rehutaulukossa 379 g/kg ka (Luke 2020). Härkäpavuvalkuainen hajoaa pötsissä nopeasti ja sen pötsihajoavuus on suuri (Yu ym. 1998). Luonnonvarakeskuksen rehutaulukoissa (Luke 2020) härkäpavun hajoavan valkuaisen osuus on 80 % ja Zagorakiksen ym. (2015) tutkimuksessa valkuaisesta hajosi pötsissä jopa 88 prosenttia *in sacco* -menetelmällä mitattuna. Myös Rotgerin ym. (2006) tutkimuksessa härkäpavun raakavalkuainen hajosi nopeasti ja oli liukoisempaa (60 % vs. 16 %) ja pötsihajoavampaa (81 % vs. 64 %) kuin soijarouheen valkuainen. Samansuuntaisia tuloksia saatiin myös Van der Polin ym. (2009) ja Cherifin ym. (2018) tutkimuksissa, kun soijarouhetta ja maissia korvattiin herneellä ja kokonaisella ja valssimurskatulla härkäpavulla. Pötsimikrobit tarvitsevat riittävästi pötsissä hajoavaa valkuaista mikrobivalkuaisen tuotantoon. Suuri valkuaisen pötsihajoavuus kuitenkin vähentää ohutsuolessa imeytyvän valkuaisen osuutta, jota maitorauhanen hyödyntää maidon valkuaiissynteesissä. Pötsin ylimääräinen valkuainen myös kuormittaa sekä eläintä että ympäristöä, ja typen muuttaminen ureaksi kuluttaa lehmän energiavarastoja (Crépon ym. 2010).

Härkäpavuvalkuaisessa on rikkiäpitoisia aminohappoja suhteellisen vähän verrattuna muihin valkuaislähteisiin (Luke 2020). Härkäpavun siemenissä on suuri lysiinipitoisuus, mutta pieni metioniini-, kysteiini- ja tryptofaanipitoisuus (Duc ym. 1999). Vanhatalon ym. (1999) mukaan rajoittuneesti käyneeseen nurmisäilörehuun perustuvassa ruokinnassa maidontuotantoa rajoittaa ensimmäisenä histidiini, jota härkäpapu sisältää lähes yhtä paljon kuin rypsi (2,6 vs. 2,8 g / 100 g valkuaista). Seuraavana rajoittavaa aminohappoa metioniinia härkäpavussa on kuitenkin selvästi vähemmän kuin rypsiä (0,6 vs. 1,8 g / 100 g valkuaista) (Luke 2020).

Härkäpavun siemenissä on moninkertaisesti tärkkelystä rypsirouheeseen verrattuna (380 vs. 45 g/kg ka) ja tutkimuksissa härkäpavun tärkkelyspitoisuudet ovat olleet lajikkeesta ja kasvatusolosuhteista riippuen noin 320–440 g/kg ka (Yu ym. 2005, Larsen ym. 2009, Crépon ym. 2010). Tämä tekee härkäpavusta hyvän energianlähteen pötsimikrobeille ja mahdollistaa osittaisen viljojen korvaamisen lypsylehmien ruokinnassa. Härkäpavun tärkkelys hajoaa pötsissä nopeasti (Yu ym. 2001), mikä pitää huomioida kokonaisruokinnassa pötsin toiminnan kannalta. Aleksicin ym. (1999) *in sacco* -tutkimuksessa pötsihajoavan tärkkelyksen osuus oli 58 % ja Offnerin ym. (2003) sekä Moharreryn ym. (2014) tutkimuksissa pötsissä hajosi jopa 73 % ja 77 % tärkkelyksestä. Palkoviljojen siementen tärkkelyksestä hajoaa kuitenkin suurempi osa pötsin jälkeen ohutsuolessa viljoihin verrattuna (Larsen ym. 2009). Härkäpavussa on muiden palkoviljojen tapaan runsaasti C-tyypin tärkkelystä, jota amylaasientsyymi ei pysty hajottamaan (Gallant ym. 1992). Härkäpavun tärkkelystä suojaa myös paksu soluseinä, joka heikentää tärkkelyksen hajotusta (Hoover ja Zhou 2003). Ducin ym. (1999) mukaan härkäpavun tärkkelyspitoisuus korreloi negatiivisesti sen valkuaispitoisuuden kanssa. Härkäpavussa on vähemmän raakasvaa kuin rypsirouheessa (15 vs. 44 g/kg ka) ja myös neutraalidetergenttikuitua (NDF), sokeria ja tuhkaa on rypsirouheessa enemmän kuin härkäpavussa (Luke 2020).

Härkäpavun runsas tärkkelyspitoisuus saattaa lisätä pötsin propionihapon tuotantoa ja vähentää etikkahapon ja metaanin tuotantoa. Soijarouheen korvaaminen härkäpavulla ei kuitenkaan vaikuttanut etikka- ja propionihapon suhteeseen Ingalsin ym. (1980) eikä Cherifin ym. (2018) tutkimuksissa. Molemmissa tutkimuksissa härkäpavun osuus dieetin kuiva-aineesta on ollut alle 25 %, joten on mahdollista, että muutokset pötsifermentaatiossa eivät ole tulleet vielä merkitseviksi. Cherifin ym. (2018) tutkimuksessa soijarouheen ja maissin korvaaminen härkäpavulla (härkäpapurouhe ja härkäpapuruhe) ei vaikuttanut myöskään lehmien metaanin tuotantoon. Härkäpapurouokinnan vaikutuksista lehmien metaanipäästöihin on toistaiseksi vain vähän tutkimustietoa.

Härkäpavun haitta-aineet voivat vaikuttaa negatiivisesti rehun ravintoaineiden sulavuuteen ja heikentää tuotantoeläinten terveyttä ja tuotosta. Härkäpavun haitta-aineista merkittävimpiä ovat glykosidit, erityisesti visiini ja konvisiini, mutta härkäpavussa on myös proteaasi- ja trypsiini-inhibiittoreita, lektiinejä, tanniineja, saponiineja, heikosti

sulavia oligosakkarideja sekä fenoliyhdisteitä (Dvořák ym. 2006). Härkäpavun lajike ja kasvuolosuhteet vaikuttavat sen haitta-ainepitoisuuksiin (Crépon ym. 2010).

Härkäpapu ei ole kuitenkaan ainoa valkuaisrehu, jonka käyttöä haitta-aineet rajoittavat. Esimerkiksi soijapapu sisältää jopa enemmän haitta-aineita kuin härkäpapu, minkä takia sitä yleisimmin käytetään lämpökäsiteltynä (Gulewicz ym. 2014). Esimerkiksi härkäpavun trypsiini-inhibiittorien pitoisuus on pienempi kuin soijapavun (0,97 mg/g vs. 18 mg/g), eikä sillä ole valkuaista hajottavaa ureaasiaktiivisuutta. Härkäpapu sisältää kuitenkin 3,1 mg/kg tanniineja, joita soijapavussa ei ole (Cerioli ym. 1998).

Härkäpavun tärkeimmät haitta-aineet ovat visiini ja konvisiini, joita ei pystytä poistamaan pavuista mekaanisella käsittelyllä tai kuumenuksella (Crépon ym. 2010). Kotimaisen Kontu-lajikkeen visiinin ja konvisiinin pitoisuus oli Koivusen (2016) tutkimuksessa keskimäärin 9,6 g/kg ka, mutta tutkimuksen jälkeen haitta-aineiden määrää on saatu vähennettyä kasvinjalostuksella. Vuonna 2020 Boreal Kasvinjalostus Oy julkaisi uuden Vire-lajikkeen, jossa visiinin ja konvisiinin pitoisuus on aikaisempia lajikkeita merkittävästi pienempi (Boreal 2020).

Härkäpavun haitta-aineilla ei ole havaittu olevan vaikutusta lypsylehmien terveyteen tai maitotuotokseen (Melicharová ym. 2009). Märehtijät eivät ole haitta-aineille yhtä herkkiä kuin yksimahaiset pötsimikrobien entsyymihajotuksen takia, ja härkäpapua voidaan käyttää lypsylehmien ruokinnassa useita kiloja päivässä ilman haittavaikutuksia (Crépon ym. 2010). Joitakin haitta-aineita on onnistuttu jopa hyödyntämään märehtijöiden ruokinnassa. Esimerkiksi Martinez ym. (2004) on tutkinut tanniinilisän vaikutusta eri palkokasvien valkuaisen pötsihajoavuuteen nailonpussimenetelmällä. Tutkimuksessa valkuaisen pötsihajoaminen ja aminohappojen hajotus olivat merkitsevästi pienemmät niillä lehmillä, joilla palkokasvirouhe oli käsitelty tanniineilla. Käsittely paransi myös valkuaisen hyväksikäyttöä. Benchaarin ym. (2008) ja Liun ym. (2013) tutkimuksissa härkäpavun tanniinipitoisuudella ei ollut kuitenkaan vaikutusta lehmien kuiva-aineen syöntiin, pötsifermentaatioon, ravintoaineiden sulatukseen tai maidontuotantoon.

2.2 Härkäpavun vaikutus maidontuotantoon ja maidon koostumukseen

Härkäpapuruokinnan vaikutuksesta maidontuotantoon ja maidon koostumukseen on toistaiseksi vain vähän tutkimustietoa. Cherifin ym. (2018) tutkimuksessa soijarouheen ja maissin isonitrogeeninen korvaaminen härkäpapujauholla tai -rouheella ei vaikuttanut maitotuotokseen tai maidon koostumukseen. Dieetillä ei ollut myöskään vaikutusta kuiva-aineen syöntiin, sulavuuteen tai pötsifermentaatioon. Samansuuntaisia tuloksia on saatu myös aikaisemmissa tutkimuksissa (Ingalls ym. 1980, Volpelli ym. 2010, Tufarelli ym. 2012), kun soijarouhetta on korvattu karkeaksi jauhetulla härkäpapujauholla tai -rouheella. Créponin ym. (2010) mukaan 30 % soijarouheeseen pohjautuvasta täydennysvalkuaisrehusta voidaan korvata härkäpavulla vaikuttamatta rehun syöntiin, maitotuotokseen tai maidon koostumukseen.

Johnstonin ym. (2019) tutkimuksessa ruokinta ei vaikuttanut kuiva-aineen syöntiin, ravintoaineiden sulavuuteen tai maitotuotokseen, kun dieettiin lisättiin jopa 8,4 kg käsittelemätöntä härkäpapua. Pötsissä hajoava tärkkelys saattoi kuitenkin heikentää pötsin kuidun sulatusta, sillä suurimmalla ruokinnan härkäpaputasolla maidon rasvapitoisuus pieneni. Puhakan ym. (2016) tutkimuksessa maitotuotos ja maidon valkuaispitoisuus ja -tuotos sekä rasvatuotos pienenivät, kun rypsirouhetta korvattiin härkäpapujauholla ja teollisesti pelletöidyllä härkäpavulla. Tuotoksen heikkeneminen aiheutui todennäköisesti pienemmästä kuiva-aineen syönnistä härkäpapuruokinnassa rypsirookintaan verrattuna. Rypsirouhuokinta on useissa kotimaisissa tutkimuksissa vaikuttanut positiivisesti kuiva-aineen syöntiin ja maidontuotantoon ja Tuorin ym. (1992) ja Huhtasen ym. (2011) tutkimuksissa rypsirouhe lisäsi kuiva-aineen syöntiä heikentämättä dieetin sulavuutta.

Maitorasvan rasvahappokoostumusta voidaan muuttaa varsin tehokkaasti lehmien ruokintaa muuttamalla (Kairenius ym. 2008). Maitorasvan rasvahapoista suurin osa on lyhyt- ja keskipitkäketjuisia tyydyttyneitä rasvahappoja (C4-C14, C16), joita valmistetaan maitorauhasen *de novo* -synteesissä. Rehun rasvahappokoostumus vaikuttaa erityisesti maidon pitkäketjuisten, yli 18 hiiliatomia sisältävien, rasvahappojen osuuteen. Rehun tyydyttymättömät rasvahapot, esimerkiksi rypsin öljyhappo (*cis*-9 18:1), vähentävät lyhytketjuisten, tyydyttyneiden *de novo* -rasvahappojen osuutta maidossa ja lisäävät pitkäketjuisten, kerta- ja monitydyttymättömien rasvahappojen osuutta (Chilliard ym. 2000, Givens ja Shingfield 2006). Maitorasvassa on myös jonkin verran

tyyydyttymättömiä *trans*-rasvahappoja, joita syntyy pötsin biohydrogenaation välituotteina. Biohydrogeenatioissa pötsimikrobien entsyymit pelkistävät rehun tyydyttymättömiä rasvahappoja tyydyttyneiksi, mutta kaikki rasvahapot eivät prosessoidu loppuun saakka. Lopputuotteena syntyy lukuisia eri rasvahappoja, kuten terveydelle edullisia konjugoidun linolihapon (CLA) isomeerejä (Baumgard ym. 2000). Myös biohydrogenaation välituotteet, kuten CLA, vähentävät maitorasvan *de novo* -synteesiä rehun tyydyttymättömien ja monityydyttymättömien rasvahappojen tapaan (Bauman ja Griinari 2003).

Härkäpapu sisältää vähemmän rasvaa kuin rypsirouhe, ja myös sen rasvahappokoostumus eroaa rypsirouheen rasvahappokoostumuksesta (Taulukko 1). Härkäpavun tärkein rasvahappo on monityydyttymätön linolihappo (18:2n-6), jonka osuus härkäpavun rasvahapoista on noin puolet. Myös rypsirouheessa on jonkin verran linolihappoa, mutta rypsin tärkein rasvahappo on kuitenkin kertatyydyttymätön öljyhappo (*cis*-9 18:1). Öljyhapon osuus rypsin rasvahapoista oli Glasserin ym. (2008) tutkimuksessa jopa 60,5 %. Härkäpavun rasvahapoissa on myös jonkin verran öljyhappoa sekä tyydyttynyttä palmitiinihappoa (16:0). Härkäpapuruoikinta voi mahdollisesti lisätä maidon haaraketjuisten rasvahappojen määrää, sillä pötsissä hajoavan valkuaisen haaraketjuiset aminohapot toimivat niiden lähtöaineina (Palmquist ym. 1993). Härkäpapuruoikinnan vaikutuksista maidon rasvahappokoostumukseen ei ole julkaistu aikaisempia tutkimuksia.

Taulukko 1. Härkäpavun siementen ja rypsirouheen rasvahappokoostumus (g/100 g rasvahappoja)

Rasvahappo	Härkäpapu			Rypsirouhe	
	Cazzato ym. 2012	Grela ym. 1995	Lanza ym. 2011	Collomb ym. 2004	Glasser ym. 2008
14:0	2,53	0,2	2,51	0,06	0,2
16:0	12,83	18,3	15,3	4,07	4,8
18:0	2,88	3,1	2,53	1,59	2,1
<i>cis</i> -9 18:1	23,14	18,0	18,9	54,67	60,5
18:2n-6	48,25	28,3	56,1	17,95	20,8
18:3n-3	5,17	3,6	6,4	8,93	9,2

2.3 Teollisen prosessoinnin vaikutus härkäpavun pötsisulavuuteen

Käsittämätöntä härkäpapua voidaan käyttää lypsylehmien ruokinnassa suuriakin määriä (Johnston ym. 2019), mutta härkäpavun valkuaisen ja tärkkelyksen suuri pötsihajoavuus voivat heikentää härkäpavun ruokinnallista arvoa. Härkäpavuvalkuaisen hajoamisnopeus pötsissä on niin suuri, että mikrobit eivät kykene hyödyntämään kaikkea mikrobivalkuaisen tuotantoon, vaan lehmä erittää ylimääräisen typhen virtsassa (Tamminga ja Jansman, 1993). Koska myös härkäpavun tärkkelys hajoaa pötsissä nopeasti, ohutsuolessa sulavaa tärkkelystä ja sieltä imeytyvää glukoosia jää vain vähän lehmän käyttöön. Härkäpavun hajoavan tärkkelyksen osuus on kuitenkin pienempi sekä pötsissä että ohutsuolessa ohraan ja vehnään verrattuna (Larsen ym. 2009). Suuren pötsihajoavuuden seurauksena haihtuvien rasvahappojen (VFA) voimakas tuotanto laskee pötsin pH:ta ja voi heikentää kuidun sulatusta (Yu ym. 2001).

Härkäpavun teollinen prosessointi voi vähentää sen pötsisulavuutta ja lisätä ohutsuolisulavuutta. Teollisen prosessoinnin vaikutukset maidontuotantoon ovat tutkimuksissa olleet kuitenkin vaihtelevia. Härkäpavun teollinen käsittely tarkoittaa yleensä lämpökäsittelyä, lämpö- ja höyrykäsittelyn yhdistelmää tai kemiallista käsittelyä (Safaei ja Yang 2017). Prosessointiin kuuluu usein mekaaninen käsittely, esimerkiksi kuoriminen (valssimurskaus), litistys, hiutalointi tai jauhaminen. Toisin kuin muut tuotantoeläimet, märehitijät kykenevät hyödyntämään härkäpavun kuorineen. Mekaaninen käsittely vaikuttaa kuitenkin rehun pötsihajoavuuteen, sillä partikkelikoon pienentäminen lisää tarttumapinta-alaa pötsimikrobeille. Tutkimuksissa on havaittu, että pienempi partikkelikoko lisää valkuaisen ja tärkkelyksen pötsihajoavuutta ja vaikuttaa sitä kautta ravintoaineiden imeytymiseen ja lopulta maidontuotantoon (Dhiman ym. 1997, Yang ym. 2000).

Lähes kaikki kaupalliset nautojen täysrehut ja puolitiivisteet käsitellään nykyään teollisesti lämpökäsittelyllä esimerkiksi pelletöinnin takia. Safaein ja Yangin (2017) tutkimuksessa höyrykäsittely paransi viljojen ruokinnallista arvoa verrattuna vain kuumakäsittelyihin viljoihin. Yun ym. (2000) tutkimuksessa härkäpavun suurin ohutsuolisulavuus saatiin lämpökäsittelmällä rehumassaa 136 °C:ssa 15 minuutin ajan. Tällä käsittelyllä myös pötsimikrobeille jäi riittävä määrä valkuaista proteiinisynteesin ylläpitoon. Lämpökäsittelyn voimakkuutta voidaan säädellä ajan, lämpötilan ja kosteuden muutoksilla (Safaei ja Yang 2017). Koska teollinen käsittely voidaan tehdä lukuisilla eri

tavoilla, käsittelyn vaikutusta härkävun pötsisulavuuteen on haastava vertailla eri tutkimuksissa.

Teollisessa lämpökäsittelyssä aminohapot ja aldoosisokerit (esim. glukoosi) muodostavat yhdisteitä, joita pötsimikrobit eivät pysty entsymaattisesti hajottamaan (Dreher ym. 1984). Reaktiota kutsutaan Maillard-reaktioksi, ja sen reaktiotuotteet (MRP) ovat osittain pötsimikrobien hyödynnettävissä (Kostyukovsky ym. 1995). Jos reaktiotuotteet hajoavat pötsin sijaan vasta ohutsuolessa, lehmä saa käyttöönsä aminohappoja ja glukoosia, jotka pötsimikrobit hyödyntäisivät muuten omassa aineenvaihdunnassaan. Maillard-reaktiotuotteita, kuten lysiinistä muodostuvaa furosiinia, voidaan käyttää myös lämpökäsittelyn vaikutuksen arvioimisessa (Schwarzenbolz ym. 2016, Hofmann ym. 2020).

Teollinen käsittely voidaan tehdä myös kemiallisilla aineilla. Esimerkiksi rypsirouheen pötsisulavuutta saatiin vähennettyä formaldehydikäsittelyllä Raen ym. (1983) tutkimuksessa. Kemialliset aineet voivat kuitenkin olla haitallisia, ja niiden käyttö on myös usein kalliimpaa. Formaldehydin käyttö rehulisäaineena kiellettiin Suomessa vuonna 2018 (MMM 2018).

Solunsisällyshiilihydraatit, kuten tärkkelys ja sokerit, toimivat mikrobien energian lähteenä pötsissä. Osa tärkkelyksestä voi myös ohittaa pötsin ja imeytyä glukoosina ohutsuolessa. Sen sijaan solunseinämähiilihydraatit, kuten selluloosa, hajoavat lähinnä vain pötsissä (De Visser ym. 1980). Tammingan ym. (1990) mukaan käsittelemättömän härkävun solunseinämähiilihydraateista 80 % oli pötsihajoavia ja niistä 62 % hajosi neljän tunnin pötsiuiton aikana. Solunsisällyshiilihydraattien hajotuksen siirtyminen ohutsuolessa on edullista lypsylehmän kannalta, sillä korkeatuottoisilla lehmillä glukoosin puute rajoittaa usein maidontuotantoa. Solunsisällyshiilihydraattien ohutsuolisulavuuden lisääntyminen vähentää usein hiukan maidon rasvapitoisuutta, mutta voi lisätä maitotuotosta ja maidon valkuaispitoisuutta (Yu ym. 1998, 2001). Sen sijaan solunseinämähiilihydraattien hajotus pitäisi tapahtua mahdollisimman täydellisesti pötsissä, sillä vain pötsimikrobien tuottamat entsyymit hajottavat kuitua tehokkaasti. Yun ym. (2001) tutkimuksessa härkävun lämpökäsittely vähensi erityisesti raakavalkuaisen ja solunsisällyshiilihydraattien pötsihajoavuutta ja lisäsi niiden ohutsuolisulavuutta, mutta vaikutti vain vähän kuidun pötsihajoavuuteen. Tämä muutos on erityisen toivottava

korkeatuottoisille lehmille, sillä lämpökäsittely voisi potentiaalisesti lisätä energiaa ja aminohappoja maidontuotantoon.

Teollinen käsittely on vaikuttanut härkäpavun pötsisulavuuteen useissa tutkimuksissa. Yun ym. (1998) tutkimuksessa härkäpavun paahtaminen (150°C/45 min) lisäsi pötsin ohittavan valkuaisen määrää melkein nelinkertaiseksi ja tärkkelyksen yli kaksinkertaiseksi käsittelemättömään härkäpapuun verrattuna. Benchaarin ym. (1992) tutkimuksessa ekstrudoidun härkäpavuvalkuaisen ohutsuolisulavuus oli 38 %, kun taas käsittelemättömän härkäpavun sulavuus oli 33,5 %. Myös Aguilera ym. (1992) tutkimuksessa lämpökäsittelyllä (120 °C, 30 min) saatiin härkäpavuvalkuaisen pötsisulavuutta vähennettyä ja ohutsuolessa imeytyvän valkuaisen osuutta lisättyä verrattuna käsittelemättömään härkäpapuun. Myös Goeleman ym. (1998) tutkimuksen tulokset ovat samansuuntaisia. Useissa tutkimuksissa (Cros ym. 1991, Goelema ym. 1998, Melicharová ym. 2009) teollinen käsittely on vähentänyt härkäpavun tärkkelyksen pötsihajoavuutta, mutta Benchaarin ym. (1992) kokeessa ekstrusoitujen härkäpapujen tärkkelyksen pötsisulavuus oli kuitenkin suurempi (72 % vs. 58 %) kuin käsittelemättömien härkäpapujen. Van der Polin ym. (2009) ja Cherifin ym. (2018) tutkimuksissa härkäpavun prosessointi ei vaikuttanut pötsin ammoniakkin tuotantoon ja Benchaarin ym. (1992) mukaan härkäpavun teollisella käsittelyllä ei ollut vaikutusta myöskään pötsin haihtuvien rasvahappojen pitoisuuksiin.

Crosin ym. (1992) mukaan lämpökäsittelyllä ei ollut vaikutusta härkäpavun aminohappokoostumukseen, mutta se paransi aminohappojen hyväksikäyttöä ohutsuolessa. Liian voimakas lämpökäsittely voi kuitenkin hajottaa aminohappoja ja heikentää sitä kautta valkuaisen laatua. Esimerkiksi Tuorin ym. (1992) kokeessa lysiinin määrä oli merkitsevästi pienempi käsitellyssä rypsirouheessa kuin käsittelemättömässä rouheessa. Lysiinin hajoaminen lämpökäsittelyssä aiheutuu Maillard-reaktiosta, jonka ensimmäisessä vaiheessa lysiini sitoutuu sokereihin ja heikentää sen käyttökelpoisuutta aminohappona (Teodorowicz ym. 2018). Lämpökäsittelyn jatkuessa lysiini reagoi muodostaen Maillardin sekundäärisiä reaktiotuotteita, kuten melanoideja (van Rooijen ym. 2013). Myös muut aminohapot, kuten arginiini, histidiini ja tryptofaani, voivat muodostaa yhdisteitä Maillard-reaktiossa, mutta lysiini reagoi glukoosin kanssa erityisen herkästi ϵ -aminoryhmänsä (primäärinen amiini) takia (Teodorowicz ym. 2018). Lysiinin reagoimista voitaisiin mahdollisesti vähentää säätelemällä lämpökäsittelyn voimakkuutta esimerkiksi furosiinin määrän analysoinnilla, sillä furosiinia muodostuu Maillard-

reaktion ensimmäisessä vaiheessa (Teodorowicz ym. 2018). Teollisissa rehuissa olisi myös tärkeä kiinnittää huomiota rehun todelliseen, eläimen hyödynnettävissä olevan lysiinin määrään.

Useissa tutkimuksissa valkuaisen pötsisulavuuden vähentäminen teollisella prosessoinnilla ei ole lisännyt maitotuotosta (Huhtanen ym. 1991, Huhtanen ym. 1996, Tuori 1992). Huhtanen ym. (2011) meta-analyysissä rehuvalkuaisen pötsihajoavuuden vähentäminen lämpökäsittelyllä ei parantanut valkuaisen ruokinnallista arvoa, mikä havaittiin myös monissa meta-analyysin tutkimuksissa. Bertilssonin ym. (1994) tutkimuksessa rypsirouheen teollinen käsittely sen sijaan lisäsi maitotuotosta valkuaiaston ollessa rajoitettu. Voigtin ym. (1991) mukaan valkuaisen pötsisulavuuden vähentäminen vähentää samalla myös pötsin mikrobivalkuaisen tuotantoa. Kun rehun valkuaisen pötsisulavuutta vähennetään, vaikutus maidontuotantoon on positiivinen vain, jos pötsin mikrobivalkuaisen tuotanto pysyy muuttumattomana (Huhtanen ym. 1996). Smallin ym. (1990) mukaan valkuaisen pötsisulavuuden vähentämisellä ei saadakaan samoja tuotantovaikutuksia kuin dieetin raakavalkuaispitoisuuden lisäämisellä. Huhtanen ym. (2011) mukaan maidontuotantotuloksiin saattavat vaikuttaa myös *in situ* -menetelmän epätarkkuus, valkuaisen ohutsuolisulavuuden heikkeneminen tai lysiinin ja muiden aminohappojen tuhoutuminen lämpökäsittelyssä. Myös esimerkiksi energian puute saattaa rajoittaa ohutsuolessa imeytyvien aminohappojen hyödyntämistä.

3 RUOKINNAN METIONIINITÄYDENNYKSEN VAIKUTUS MAIDONTUOTANTOON

Maidontuotantoa ensimmäisenä rajoittavat aminohapot vaihtelevat lypsylehmien dieetin mukaan (Vanhatalo ym. 1999). Maitorauhasen käytössä oleva ohutsuolessa imeytynyt valkuainen koostuu rehuvalkuaisesta ja mikrobivalkuaisesta. Eri rehukasvien aminohappokoostumuksen lisäksi ruokinta vaikuttaa myös mikrobivalkuaisen määrään ja laatuun, mikä tulee huomioida lehmän aminohappojen tarvetta arvioitaessa. Esimerkiksi nurmisäilörehuun perustuvassa ruokinnassa mikrobivalkuainen muodostaa suuremman osuuden ohutsuolessa imeytyvästä valkuaisesta kuin maissisäilörehuun perustuvassa ruokinnassa (Vanhatalo ym. 1999). Useimmissa maissisäilörehuruokintaan perustuvissa ruokintakokeissa ensimmäisenä maidontuotantoa ovat rajoittaneet metioniini ja lysiini. Kotimaisessa, rajoitetusti käyneeseen nurmisäilörehuun pohjautuvassa ruokinnassa, ensimmäinen rajoittava aminohappo on usein histidiini (Vanhatalo ym. 1999). Metioniini rajoitti maitotuotosta ensimmäisenä palkokasveihin, maissisäilörehuun ja soijarouheeseen perustuvassa ruokinnassa (Schwab ym. 1996, Pisulewski ym. 1996).

Maitorauhanen ottaa tarvitsemansa välttämättömät aminohapot valtimoveren vapaista aminohapoista (Bequette ym. 1997). Juoksutusmahaan infusoidut aminohapot imeytyvät ohutsuolen seinämän läpi verenkiertoon, jolloin välttämättömiä aminohappoja on enemmän tarjolla maitorauhasen käyttöön. Myös pötsisuojatut aminohapot imeytyvät suurimmaksi osaksi vasta ohutsuolessa. Pötsisuojuuksella saavutetaan kuitenkin harvoin täydellistä aminohappojen ohutsuolisulavuutta, jolloin tutkimusta varten todellista aminohappolisän määrää ei pystytä määrittämään. Infuusiokokeet vaativat erityiset koejärjestelyt ja ovat työlämpiä kuin perinteiset ruokintakokeet. Infuusiot saattavat myös vaikuttaa kokeen tuloksiin vähentämällä lehmien kuiva-aineen syöntiä (Larsen ym. 2014). Pötsin ohi juoksutusmahaan ohjattu infuusio on kuitenkin tällä hetkellä tutkimuksissa käytetty keino varmistua eläimen käyttöön päätyvän aminohappotäydennyksen määrästä.

Juoksutusmahan metioniini-infuusio lisäsi maito- ja valkuaistuotosta maissisäilörehuun ja soijarouheeseen perustuvassa ruokinnassa Pisulewskin ym. (1996) ja Sochan ym. (1994) tutkimuksissa. Maito- ja valkuaistuotos lisääntyivät vastaavassa ruokinnassa myös kahdessa Rulquinin ym. (1994 ja 1997) tutkimuksessa, joissa metioniinilisä annettiin pötsisuojuuttuna rehun joukossa. Myös muissa tutkimuksissa pötsisuojuuttu metioniini on

lisännyt maitotuotosta (Schmidt ym. 1999), maidon valkuaispitoisuutta (Armentano ym. 1997, Berthiaume ym. 2006), valkuaisuutosta (Armentano ym. 1997) ja rasvatuotosta (Overton ym. 1996). Kun ruokintaa täydennettiin pötsisuojatulla metioniinilla nurmisäilörehuun ja härkäpapuvalkuaisrehuun perustuvassa ruokinnassa, se lisäsi maidon valkuaispitoisuutta, mutta vähensi suuntaa antavasti maitotuotosta (Pitkänen 2020). Metioniinitäydennyksen vaikutuksesta nurmisäilörehuun ja härkäpaputäydennysvalkuaiseen perustuvassa ruokinnassa on kuitenkin vain vähän tutkimusta.

Metioniini on välttämätön aminohappo maidon valkuais synteesin kannalta, mutta sitä tarvitaan myös fosfolipidien, karnitiinin, kreatiinin ja polyamiinien synteesiin (Bequette ym. 1997). Metioniini on osallisena myös betaiinin ja koliinin metaboliassa (Davidson ym. 2008). Metioniini on esiaste S-adenosyylimetioniinille, joka luovuttaa metyyliryhmän koliinin *de novo* -synteesissä fosfoetanoliamiinista (PE). Koliinin hapettuessa betaiiniksi, betaiini voi luovuttaa metyyliryhmän, jolloin homokysteiniinistä saadaan jälleen metioniinia. Näiden yhteyksien takia koliinin ja betaiinin saanti vaikuttaa myös lehmän metioniinin tarpeeseen, ja ruokinnan metioniinilisä voi tehostaa betaiinin ja koliinin metaboliaa (Davidson ym. 2008).

Emmanuel ja Kennelly (1984) tutkivat koliinin synteesiä lypsyrotuisilla vuohilla, joilla imeytyvästä metioniinista 28 % käytettiin koliinin valmistamiseen. Sharman ja Erdmanin (1988) tutkimuksessa 2-amino-2-metyyli-1-propanolia (2AMP) infusoimalla estettiin koliinin *de novo* -synteesiä metioniinista, jolloin lehmien maitotuotos väheni verrokkiryhmään verrattuna. Samassa tutkimuksessa koliini-infusiolla (30 g/pv) saatiin myös lisättyä maito-, valkuais- ja rasvatuotosta. Pinotti ym. (2003) sai samansuuntaisia tuloksia pötsisuojatua koliinia käyttämällä. Tämä saattaa viitata siihen, että nimenomaan koliinin synteesi rajoittaa maitotuotosta ruokinnassa, jossa on niukasti metioniinia. Davidsonin ym. (2008) mukaan ruokinnan riittävällä metioniinin, betaiinin ja koliinin saannilla voidaan mahdollisesti myös vähentää lypsylehmien maksan rasvoittumista alkulaktaation negatiivisen energiataseen aikana, sillä ruokinnan metioniinilisä on tutkimuksissa lisännyt maksan triglyseridejä verenkiertoon kuljettavien VLDL-lipoproteiinien tuotantoa (Zeisel 1993, Aubeiron ym. 1994).

4 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tämän kokeen tavoitteena oli tutkia, voidaanko teollisella prosessoinnilla ja ruokinnan metioniinilisällä parantaa härkäpapuvalkuaisen hyväksikäyttöä maidontuotannossa. Tavoitteena oli myös arvioida härkäpapuruokinnan tuotantovaikutuksia rypsirookintaan verrattuna. Tutkimus kuului Makera-rahoitteiseen Täsmäpapu-hankkeeseen, jossa yhteistyökumppaneina olivat myös RaisioAgro Oy ja NordicSoya Oy. Positiivisena kontrollina kokeessa oli rypsirookinta, jolla on aikaisemmissa kokeissa saatu hyvä vaikutus maidontuotantoon kotimaisessa rajoittuneesti käyneeseen nurmisäilörehuun perustuvassa ruokinnassa.

Tutkimuksen hypoteesina oli, että rypsirookinnassa maito- ja valkuaistuotos ovat suuremmat kuin härkäpapuruokinnassa. Tämän takia härkäpavun vaikutusta maidontuotantoon pyrittiin kokeessa parantamaan teollisen käsittelyn ja metioniinilisän avulla. Hypoteesina oli myös, että härkäpavun teollinen prosessointi sekä valkuaisen metioniinitäydennys voivat parantaa maito- ja valkuaistuotosta verrattuna ruokintaan, jossa valkuaislähteenä on käsittelemätön härkäpapu. Kokeessa oletettiin myös valkuaisrehun vaikutuksen maidon rasvahappokoostumukseen jäävän vähäiseksi, sillä sekä härkäpapu että rypsirouhe sisältävät kummatkin vain vähän rasvaa.

5 AINEISTO JA MENETELMÄT

5.1 Koejärjestelyt ja koe-eläimet

Koe suoritettiin 6.1.2018 – 21.4.2018 Viikin opetus- ja tutkimustilan navetassa. Koeasetelma hyväksyttiin eläinkoelautakunnalla ja kokeessa noudatettiin Suomen ja EU:n lainsäädäntöä koejärjestelyiden suhteen (EU direktiivi 2010/63/EU ja kansallinen lainsäädäntö ”Laki tieteellisiin tai opetustarkoituksiin käytettävien eläinten suojelusta 497/2013”). Kokeessa oli mukana kuusi vähintään kaksi kertaa poikinutta ayrshirelehmää (Taulukko 2), joilla oli pötsifistelit (sisähalkaisija 100 mm; Bar Diamond Inc., Parma, ID). Lehmät olivat kokeen ajan kiinnitettynä parteen. Poikimisesta oli kokeen alkaessa keskimäärin 74 päivää (keskihajonta 11,7 päivää) ja lehmien elopaino oli kokeen alussa keskimäärin 680 kg (keskihajonta 56,8 kg) ja lopussa 666 kg (keskihajonta 64,1 kg). Lehmien kuntoluokka oli kokeen alussa keskimäärin 3,28 (keskihajonta 0,030) ja lopussa 3,02 (keskihajonta 0,471). Lehmät pysyivät samoina kokeen alusta loppuun saakka.

Taulukko 2. Kokeen lehmät

Nro	Korvanro	Nimi	Poikimakerta	Poikimapäivä	Maitotuotos joulukuu, kg
1	583	Alibi	7	13.11.2017	43
2	782	Keeper	3	19.10.2017	55–57
3	777	Karibia	3	20.10.2017	45–46
4	714	Janette	3	14.10.2017	48–50
5	830	Loviisa	2	22.10.2017	45–46

Kokeessa käytettiin koemallina 5x5 latinalaista neliötä (Taulukko 3) ja eläimet sijoitettiin koeruokinnolle satunnaisesti. Koekäsittelyitä oli viisi: kontrolli (rypsirouhe), jauhettu härkäpapu, jauhettu härkäpapu + metioniini, teollisesti prosessoitu härkäpapuruhe ja teollisesti prosessoitu härkäpapuruhe + metioniini. Koejaksot kestivät kolme viikkoa (21 vrk), joista ensimmäinen viikko oli totutusruokintaa (7 vrk), seuraava viikko totutusruokintaa infuusioiden kanssa (7 vrk) ja viimeinen viikko oli keruuviikko (7 vrk).

Taulukko 3. Koekaavio

Jakso	Lehmä nro				
	1	2	3	4	5
I	RR	HJ	HJM	HR	HRM
II	HJ	HJM	HR	HRM	RR
III	HR	HRM	RR	HJ	HJM
IV	HJM	HR	HRM	RR	HJ
V	HRM	RR	HJ	HJM	HR

RR = rypsirouhe, HJ = härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus), HJM = härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus) + metioniini, HR = härkäpapurouhe (teollinen härkäpavun prosessointi), HRM = härkäpapurouhe (teollinen härkäpavun prosessointi) + metioniini

5.2 Rehukomponentit, koerehuseokset ja ruokinta

Eläimet ruokittiin kokeessa seosrehuruokinnalla. Koeruokintoina olivat viljaan ja nurmisäilörehuun pohjautuvat seosrehut (Taulukko 4), joissa väkirehua oli 38 % rehun kuiva-aineesta. Seosrehuseptit laskettiin niin, että raakavalkuaisen saanti rypsiä tai härkäpavusta oli vakio. Tämä tarkoitti 1 kg raakavalkuaista per päivä vastaten noin 3,1 kg rypsirouhetta ja 3,9 kg härkäpapua, kun kuiva-aineen syönti oli 23 kg/pv. Viljan osuutta seosrehussa muutettiin niin, että väkirehun osuus seoksessa oli kaikissa ruokinnoissa sama. Kokeessa käytetty karkearehu oli Helsingin kaupungin Haltialan kotieläintilan kesän 2017 ensimmäisen sadon timotei-nurminatasäilörehua (*Phleum pratense-Festuca pratensis*), joka oli säilötty pyöröpaaleihin. Rehu oli korjattu 15.6.2017 kotieläintilan peltolohkolta N7. Säilörehun korjaamisessa käytettiin niittomurskainta (Krone EasyCut 3210 CV, Maschinenfabrik Bernard Krone GmbH, Spelle, Saksa) ja paalainta (Lely Welger RPC 245 Tornado, Lely International, Maassluis, Alankomaat). Säilöntäaineena oli muurahaishappopohjainen säilöntäaine (AIV 2 Plus, Taminco Finland Oy, Oulu, Suomi), jota käytettiin rehulle 5 l/tn. Säilöntäaineessa oli muurahaishappoa 760 g/kg ja ammoniumformiaattia 55 g/kg.

Taulukko 4. Koeruokinnat

	Rypsi- rouhe RR	Härkäpapu- jauho HJ	Härkäpapu- jauho + Met HJM	Härkäpapu- rouhe HR	Härkäpapu- rouhe + Met HRM
Nurmisäilörehu	X	X	X	X	X
Ohra-kaura	X	X	X	X	X
Melassileike	X	X	X	X	X
Kivennäinen	X	X	X	X	X
Rypsirouhe	X				
Härkäpapujauho		X	X		
Härkäpapuruouhe				X	X
Metioniini-infuusio			X		X

Väkirehu koostui Viikin opetus- ja tutkimustilalla tuotetusta ilmakuivasta 50:50 ohra-kaura -seoksesta, melassileikkeestä (Opti Leike, Raisioagro, Raisio, Suomi) ja kivennäisestä (Seleni-E-Melli TMR, Raisioagro). Valkuaisen lähteenä oli isonitrogeenisesti rypsirouhe (Opti Rypsi, Raisioagro), jauhettu härkäpapu tai teollisesti prosessoitu härkäpapu. Nordic Soya Oy (Uusikaupunki, Suomi) toimitti tutkimuksen härkäpavut ja härkäpapujauho ja härkäpapuruouhe valmistettiin samasta papuerästä. Härkäpapujauho jauhettiin tutkimustilalla rahtimyllärin vasaramyllyllä (Tropper Master Mix 3–6 t, Tropper Maschinen und Anlagen GmbH, Redlham, Itävalta) ”nautaseulalla” (HM660, 6 mm) kokonaisista, käsittelemättömistä härkäpavuista. Härkäpapuruouheen teollinen prosessointi tehtiin Nordic Soya Oy:n tehtaalla. Prosessointiin sisältyi härkäpapujen kuorinta, litistys, hiutalointi, lipidien uutto ja lämpökäsittely. Lämpökäsittelyssä rehumassan lämpötila oli 95 °C 90 min ajan.

Seosrehut tehtiin kolme kertaa viikossa (ma, ke, pe) sekoittavassa kiskoruokkijassa (TMR-SUK M2, Pellon Group, Ylihärmä, Suomi) ja ne säilöttiin muovilla peitettyinä kylmiössä. Mikseri (CutMix, Pellon Group, Ylihärmä, Suomi) puhdistettiin ennen paalien nostoa vanhoista rehujäämistä ja säilörehupaaleja pyöritettiin mikserissä noin 23 min/paali. Säilörehu kulkeutui automaattisesti kiskoruokkijaan (TMR-sukkula M2, Pellon Group, Ylihärmä, Suomi), ja samalla punnitut (ITB 60K10DLIPM, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Saksa) ja sekoitetut väkirehut kaadettiin käsin mikseristä tulevan säilörehun joukkoon. Väkirehut punnittiin ja sekoitettiin etukäteen erillisen ohjeen mukaan (Taulukko 5). Kiskoruokkijassa rehua sekoitettiin vielä 5 minuuttia seosrehun tasalaatuisuuden varmistamiseksi.

Taulukko 5. Tutkimuksen seosrehujen koostumus (g/ kg ka)

	Ruokinta		
	Rypsirouhe RR	Härkäpapujauho HJ	Härkäpapurouhe HR
Nurmisäilörehu	620	620	621
Rypsirouhe	108	0	0
Härkäpapujauho	0	126	0
Härkäpapurouhe	0	0	118
Ohra-kaura	199	181	188
Melassileike	56,9	57,0	57,0
Kivennäinen	15,7	15,7	15,8

Lehmät saivat syödä seosrehua vapaasti. Seosrehua jaettiin päivittäin vähintään 110 % kahden edellispäivän syönnistä. Rehu jaettiin eläimille käsin kolme kertaa vuorokaudessa (klo 9, 14–15 ja 18–20). Syönti ja jätteen määrä mitattiin vaa’allisilla yksilöllisillä rehukupeilla (RIC, Roughage Intake Control, Insentec, Marknesse, Alankomaat). Eläimet olivat tottuneet kuppien toimintaan jo ennen koetta ja kupit oli erotettu toisistaan niin, että kullakin eläimellä oli pääsy vain omaan kuppiinsa. Kuppien vaaka kalibroitiin kokeen alussa ja ennen jokaista keruuviikkoa. Lehmillä oli myös vettä rajoittamattomasti saatavilla.

5.3 Metioniini-infuusio

Kaikille koelehmillä pidettiin juoksutusmahainfuusiota koejakson päivinä 7–21. Infuusioletku asetettiin pötsifistelin kautta, ja sen pysyvyys varmistettiin 300 g painolla. Infuusio asetettiin kaikille koelehmille, mutta vain HJM- ja HRM- ruokinnoissa veden (RiOs 8 Millipore, Merck, Darmstadt, Saksa) sekaan oli liuotettu metioniinia (MetAMINO®, Evonik Nutrition & Care GmbH, Essen, Saksa). Tavoitteena oli infusoida kaikille 6 kg vettä tai metioniiliuosta (15 g/pv metioniinia) päivässä. Metioniiniliuos valmistettiin liuottamalla vuorokauden ajan 20 g metioniinia 2 litraan tislattua vettä ja lisäämällä seuraavana päivänä vettä kanistereihin niin, että nestemääräksi tuli 8 kg per kanisteri. Metioniiniliuosta valmistettiin 8 kg per päivä infuusionesteen riittävyyden varmistamiseksi. Infuusiossa käytettiin peristalttista pumpua (Watson-Marlow 520S, Falmouth Cornwall, Iso-Britannia) ja PVC-infuusioletkuja (sisähalkaisija 1,52 mm ja

paksuus 0,8 mm, Watson-Marlow, Falmouth Cornwall, Iso-Britannia), jotka vaihdettiin aina koejakson jälkeen.

Infuusiolaitteen toiminta ja letkun oikea sijainti (pötsi-satakerta -aukon kautta) tarkistettiin jokaisena infuusioamuna nesteen kulkemisen varmistamiseksi. Infuusiokanisterit vaihdettiin päivittäin samaan kellonaikaan ja vaihdon kellonaika kirjattiin minuutilleen. Metioniini- ja vesikanisterit pidettiin koko tutkimuksen ajan samoina. Tarkka infusoitu nestemäärä saatiin punnitsemalla (Mettler PM34, G.W.Berg & Co, Helsinki, Suomi) infusointikanisterit ennen ja jälkeen infuusion, sekä huomioimalla ensimmäisen ja viimeisen päivän aloitus- ja lopetuskellonajat. Infusoitava nestemäärä pyrittiin pitämään kaikille eläimille samana koko kokeen ajan säätämällä infuusiolaitteen pumppua. Keruujaksolla (pv 15–20) infusoitavasta valmiista metioniiniliuoksesta otettiin kanisterien vaihdon yhteydessä 2,5 ml näytettä eläinkohtaiseen näytepulloon. Keruujakson aikana näytepulloja säilytettiin kylmiössä ja viimeisen näytteenoton jälkeen ne siirrettiin pakastimeen.

5.4 Näytteiden keruu ja määritykset

Koelehmien elopaino määritettiin eläinvaa'alla (CV 9600 Scale, Solotop Oy, Helsinki, Suomi) kokeen alussa ja lopussa kahtena peräkkäisenä päivänä samaan kellonaikaan. Elopainona käytetään näiden mittausten keskiarvoa.

Kuntoluokitus (Edmonson ym. 1989) tehtiin kokeen alussa ja lisäksi jokaisen koejakson lopussa. Lehmien kuntoluokka arvioitiin asteikolla yhdestä viiteen (laiha–lihava) 0,25 pisteen tarkkuudella, ja luokituksessa arvioitiin kahdeksan eri kohtaa mallikuvien avulla. Kuntoluokka laskettiin näiden kohtien keskiarvona. Kuntoluokittajat pysyivät koko kokeen ajan samoina, ja lopullinen kuntoluokka oli aina kolmen luokittajan arvion keskiarvo. Kuntoluokan muutokset laskettiin vähentämällä jakson jälkeinen kuntoluokka sitä edeltävän jakson kuntoluokitustuloksesta.

Lehmien päivittäinen rehunkulutus mitattiin kirjaamalla vaakakuppien rehumäärä aina ennen rehun jakoa ja sen jälkeen. Lisäksi säilörehujäännös kirjattiin päivittäin rehukuppien tyhjennyksen yhteydessä. Rehunkulutus laskettiin näiden tietojen erotuksena.

Jokaisella seosrehun tekokerralla säilörehusta määritettiin primäärinen kuiva-ainepitoisuus kuivattamalla lämpökaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa) 103 °C:ssa 20–24 tuntia. Seosrehureseptien laskemisessa kuiva-aineena käytettiin edellisen rehuntekokerran kuiva-ainemäärityksen keskiarvoa. Jokaisella kerralla mitattiin välittömästi myös säilörehun pH navetan pH-mittarilla (S20 SevenEasy™ pH, Mettler-Toledo Ltd, Leicester, Iso-Britannia) rehun puristenesteestä.

Keruuviikolla (jakson pv 14–19) kerättiin jokaisen rehunteon yhteydessä säilörehusta ja väkirehukomponenteista analyysinäytteet, jotka säilytettiin pakkasessa käsittelyä varten. Kerätyt kolme näytettä yhdistettiin jaksoittain niin, että jokaisesta rehusta tuli yksi näyte per jakso. Kivennäisseoksesta yhdistettiin yksi näyte koko kokeen ajalta. Kaikista väkirehun komponenteista (rypsirouhe, härkäpapujauho, härkäpapuruuhe, ohra-kaura -seos, melassileike, kivennäinen) määritettiin kuiva-aine, kuivattiin analyysinäyte ja otettiin varanäyte. Säilörehusta otettiin lisäksi oma näyte säilönnällisen laadun analysointia varten.

Lehmät lypsettiin kaksi kertaa päivässä (klo 6 ja 17) putkilypsykoneella (Delaval, Tumba, Ruotsi). Maitomäärä kirjattiin ylös jokaisella lypsykerralla automaattisesti mittaavan mittarin (WB Auto Sampler, Tru-Test, Auckland, Uusi-Seelanti) mukaan. Keruuviikolla (pv 18–19) otettiin maidosta maitonäytteet maidon koostumusta varten neljänä peräkkäisenä lypsykertana. Maitonäytteet säilöttiin Bronopol-säilöntäainepillerillä (Valio Oy, Helsinki, Suomi). Samoilta lypsykerroilta pipetoitiin suhteelliset näytteet myös maidon rasvahappomääritystä varten sekä varanäytteet. Nämä maitonäytteet säilöttiin välittömästi sellaisenaan pakkasessa (-20 °C). Maidon koostumusnäytteet lähetettiin analysoitavaksi Valio Oy:n Seinäjoen aluelaboratorioon. Näytteistä analysoitiin rasva, valkuainen, laktoosi ja urea infrapuna-analysointilaitteella (Milco Scan FT 6000, Foss, Hillerød, Tanska).

Sontanäytteet (0,5 l) kerättiin spot-näytteenä suoraan peräsuolesta kaikilta lehmillä keruuviikon neljänä peräkkäisenä päivänä keruuviikon neljänä peräkkäisenä päivänä (pv 17–20) aamulla (klo 7) ja iltapäivällä (klo 15.30). Sontanäytteet yhdistettiin jaksoittain ja lehmäkohtaisesti astioihin, joita säilytettiin koko jakson ajan pakkasessa (-20 °C). Keruujakson jälkeen näytteet sulatettiin (3 vrk) ja sekoitettiin, ja niistä otettiin kuiva-aine-

ja analyysinäyte sekä näyte typpimääritystä (kokonaistyyppi) varten. Lisäksi otettiin varanäyte (500 g) pakastimeen.

Keruuviikolla (jakson pv 20) jokaiselta lehmältä otettiin pötsinesteestä alipainepumpulla (pumppu Biltema, Helsinki, Suomi ja metalliset näytteenotto-osat Alimetrics Oy, Espoo, Suomi) 100–150 ml näyte klo 6.00 ja sen jälkeen puolentoista tunnin välein klo 16.30 asti. Pötsineste suodatettiin yksinkertaisen harsokankaan läpi. Suodoksesta mitattiin pH pH-mittarilla (S20 SevenEasy™ pH, Mettler-Toledo Ltd, Leicester, Iso-Britannia) ja otettiin kolme osanäytettä. Haihtuvien rasvahappojen määrittämistä varten 25 ml:n näytepulloon pipetoitiin 0,5 ml kyllästettyä elohopeakloridia, 5 ml pötsinestettä ja 2 ml 1N NaOH, jonka jälkeen näyte pakastettiin välittömästi -20 °C:een. Eri näytteenottoaikoina otetuista näytteistä määritettiin haihtuvat rasvahapot (etikka-, propioni-, voi-, isovoi-, kaproni-, valeriana- ja isovaleriaanahappo). Ammoniumtyypen määrittämistä varten 25 ml:n näytepulloon pipetoitiin 0,3 ml 50 % H₂SO₄ ja 15 ml pötsinestettä, jonka jälkeen näyte pakastettiin välittömästi -20 °C:ssa.

Verinäyte otettiin kaikilta lehmiltä häntä- ja maitosuonesta keruuviikon perjantaina (pv 21) 3 kertaa päivässä klo 5.30, 8.30 ja 11.30. Jokaista näytettä varten otettiin kaksi (2 x 9 ml) vakuumputkellista (Vacuette, Geiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Itävalta), joissa oli antikoagulanttina tri-kalium etyleenidiamiinitetraetikkahappo (K3-EDTA). Näytteenoton jälkeen putket pidettiin kylmälaukussa jäämurskassa näytteiden jatkokäsittelyyn saakka. Plasma erotettiin näytteestä sentrifugoimalla (Type 4-15, B. Braun, Melsugen, Germany) sitä 10 min 2220 × g huoneenlämmössä. Näytteenottoaikojen yli yhdistetyistä plasmista määritettiin insuliini ja glukagoni (maitosuonesta ei insuliinia ja glukagonia), etikkahappo ja aminohapot. Glukoosin, vapaiden rasvahappojen (NEFA) ja β-hydroksivoihapon (BHBA) määrittämistä varten plasmat käsiteltiin erikseen joka näytteenottohetkeltä.

5.5 Näytteiden analysointi

Näytteiden analysointi tapahtui Helsingin yliopiston maataloustieteiden laitoksen kotieläintieteen laboratoriossa. Säilö- ja väkirehuista analysoitiin primäärinen ja sekundäärinen kuiva-aine, tuhka, raakavalkuainen, aminohapot, NDF, happoon liukenematon tuhka (AIA), sulamaton NDF (iNDF), aminohapot, rasvahapot ja tärkkelys.

Nurmisäilörehun tärkkelysanalyysissä kaikkien jaksojen näytteet yhdistettiin yhdeksi näytteeksi. Säilörehusta analysoitiin lisäksi pH, maitohappo, haihtuvat rasvahapot, etanoli, pelkistävät sokerit, ammoniumtyppi sekä *in vitro* -sellulaasisulavuus. Väkirehuista analysoitiin myös kokonaisrasvapitoisuus. Sonnasta määritettiin primäärinen ja sekundäärinen kuiva-aine, tuhka, NDF ja AIA.

Primäärinen kuiva-aine määritettiin kuivaamalla näytteitä tuulettavassa lämpökaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa) 103 °C:ssa 20–24 tunnin ajan. Analyysinäytteitä kuivatettiin lämpökaapissa ensin 103 °C:ssa tunnin ajan, jonka jälkeen rehunäytteet olivat vielä 50 °C:ssa ja sontanäytteet 70 °C:ssa kahden vuorokauden ajan. Kuivatut rehunäytteet jauhettiin 1 mm:n seulalla vasaramyllyllä (sakomylly KT-3100, Koneteollisuus Oy, Helsinki, Suomi). Sontanäytteiden jauhamiseen käytettiin 1,5 mm:n seulaa. Sekundäärinen kuiva-aine määritettiin jauhetusta kuivasta analyysinäytteestä kuivaamalla sitä vielä 103 °C:ssa lämpökaapissa 17 tuntia. Tuhka määritettiin polttamalla näytettä muhveliuunissa (Heraeus Thermicon T, Heraeus, Hanau, Saksa) 600 °C lämpötilassa 20–24 tunnin ajan.

Raakavalkuainen määritettiin Kjeldahl-menetelmällä (AOAC 1995) käyttäen Tecator-polttolaitetta (Tecator Digestion Auto ja Tecator Scubber) sekä tislauk- ja titrauslaitteistoa (FOSS Kjeltex Auto 2300, Foss, Hillerød, Tanska). Säilö- ja väkirehun aminohapot määritettiin käsittelemällä näytteet Puhakan ym. (2016) kuvaamalla tavalla noudattaen direktiiviä 98/64/EC (European Commission, 1998). Hydrolysoidut näytteet analysoitiin UPLC-laitteella (Waters Acquity UPLC, Waters, Milford, MA, Yhdysvallat), jossa BEH C18 kolonni (100 mm × 2.1mm) valmistajan ohjeiden mukaisesti.

Neutraalidetergenttikuitu määritettiin Van Soestin ym. (1991) menetelmän mukaan automaattisella FiberTherm FT12 -uuttolaitteella (Gerhardt, Königswinter, Saksa). Määrittämisessä käytettiin natriumsulfiittia, väkirehuissa α -amylaasia. NDF-pitoisuudet ilmoitettiin ilman jäännöstuhkaa. Happoon liukenematon tuhka analysoitiin Van Keulenin ja Youngin (1977) menetelmällä, ja sitä käytettiin sulavuuden määrittämisessä merkkiaineena. Sulamaton NDF määritettiin 12 vuorokauden nailonpussiuitolla kahden lehmän pötsissä (Ahvenjärvi ym. 2000). Tärkkelys määritettiin kolorimetrisesti amyloglukosidaasi- / α -amylaasimetodilla (AOAC metodi 996.11) Megazymen K-TSTA-kitillä (Megazyme, Co. Wicklow, Irlanti) valmistajan työohjeen C-version mukaan. Määrittämisestä edelsi kuitenkin etanolipesu ohjeen E kohtien 1–5 mukaisesti.

Rehujen kokonaisrasvapitoisuus saatiin petroolieetteriuutolla HCl-hydrolyysin jälkeen (FOSS Soxtec 8000 uuttoyksikkö, SoxCap 2047 hydrolyysiyksikkö, FOSS Analytical, Hillerød, Tanska). Rehujen rasvahapot määritettiin liekki-ionisaattorilla varustetulla kaasukromatografilla (GC2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japani) Stammin (2015) kuvaaman menetelmän mukaan. Kaasukromatografissa käytetyn silikonisen kapillaarikolonin (pituus 100 m, halkaisija 0,25 mm) sisäpinta oli päällystetty 0.2 µm syaanipropyli-polysiloksaanikalvolla (CP-SIL 88, Agilent J&W, Santa Clara, Kanada) ja kantajakaasuna käytettiin heliumia. Piikit tunnistettiin kaasukromatogrammeista vertaamalla niiden retentioaikoja standardien (GLC463, Nu-Chek Prep, Elysian, MN; 10-2800-7, 10-2100-9, 10-2600-12, 21-1600-8, 21-1412-7, 21-1614-7, 21-1413-7, 21-1615-7 Larodan, Malmö, Ruotsi) retentioaikoihin.

Säilörehun käymislaatu määritettiin kuivaamattomasta näytteestä. pH määritettiin pH-mittarilla (SevenCompact™ S220, Mettler-Toledo Ltd, Leicester, Iso-Britannia). Maitohappo ja haihtuvat rasvahapot (VFA) analysoitiin UPLC-menetelmällä (Waters Acquity UPLC) käyttämällä kolonnia 186004097 (Waters MassTrak AAA, Waters, Milford, MA, Yhdysvallat). Menetelmä on kuvattu Puhakan ym. (2016) julkaisussa. Etanoli määritettiin kolorimetrisesti spektrofotometrillä (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Saksa) käyttäen entsyymikittiä (cat. No 176290, R-Biopharm AG, Darmstadt, Saksa). Vesiliukoiset hiilihydraatit eli sokerit määritettiin spektrofotometrillä (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH) Somogyin (1945) ja Salon (1965) menetelmällä ja säilörehun ammoniakkityppi McCulloughin (1967) menetelmällä.

Säilörehun orgaanisen aineen *in vitro* -sulavuus määritettiin pepsiini-sellulaasi-menetelmällä (Friedel 1990) käyttäen Nousiaisen ym. (2003) muunnelmaa. Tulokset muunnettiin *in vivo* -sulavuutta vastaavaksi käyttämällä Huhtasen ym. (2006) korjausyhtälöitä. Ravintoaineiden sulavuus määritettiin merkkiainemenetelmällä (Kokkonen ym. 2000) ja merkkiaineena käytettiin AIA:ta.

Maidon koostumusnäytteistä analysoitiin rasva, valkuainen, laktoosi ja urea infrapuna-analysaattorilla (Milco Scan FT 6000, Foss, Hillerød, Tanska). Maitorauhasen ravintoaineiden otto laskettiin Halmemies-Beauchet-Filleaun ym. (2013) tutkimuksessa esitetyllä tavalla. Plasman virtaus maitorauhasen määritettiin Fickin säännön mukaan

kaavalla, joka perustuu fenyylialaniinin ja tyrosiinin siirtymiseen plasmasta maitovalkuaiseen (Cant ym. 1993). Maidon rasvahapot määritettiin Lammisen ym. (2019) kuvaaman menetelmän mukaan rehujen tapaan Shimadzun kaasukromatografilla (GC2010 Plus).

Pötsinesteen haihtuvat rasvahapot (VFA) määritettiin nestekromatografilla UPLC-menetelmällä (Waters Acquity UPLC) kolonnilla 186004097 (Waters MassTrak AAA). Menetelmä on kuvattu Puhakan ym. (2016) julkaisussa.

Plasman energiametaboliitit määritettiin kittien avulla. Plasmasta määritettiin analyysilaitteella (Konelab 30i, Konelab Oy, Espoo, Suomi) glukoosi (Glucose GOD-POD kit, Thermo Fisher Scientific Oy, Vantaa, Suomi), vapaat rasvahapot (NEFA-HR(2) kit, Wako Chemicals GmbH, Neuss, Saksa) ja BHBA (Ranbut kit, Randox Laboratories, Crumlin, Iso-Britannia). Insuliini (RIA kit, PI-12K, Millipore Oy, Espoo, Suomi) ja glukagoni (RIA kit, GL-32K; Millipore, St. Charles, MO, Yhdysvallat) määritettiin myös kittimenetelmällä. Etikkahappo määritettiin UPLC-menetelmällä (Waters Acquity UPLC) kolonnilla 186004097 (Waters MassTrak AAA). Analysointimenetelmä on kuvattu Halmemies-Beauchet-Filleaun ym. (2017) julkaisussa. Myös plasman aminohapot määritettiin UPLC-menetelmällä (Waters Acquity UPLC) kolonnilla 186004097 (Waters MassTrak AAA). Analysointimenetelmä on kuvattu Puhakan ym. (2016) julkaisussa.

5.6 Tulosten laskenta ja tilastolliset analyysit

Tulosten laskennassa käytettiin keruuviikon (jakson päivät 15–21) tuloksia. Lehmä numero 1 (583 Alibi) jätettiin pois maidon rasvahappotuloksista jakson 1 osalta. Tähän vaikutti Alibin voimakas laihtuminen ja kudusrasvojen mobilisointi maitoon, jolloin pitkäketjuisten rasvahappojen tulokset maidossa sekä plasman NEFA-pitoisuus vääristyivät.

Rehujen ja sonnan orgaaninen aine laskettiin kuiva-aineen ja tuhkan erotuksena. Säilörehun D-arvo laskettiin kertomalla orgaanisen aineen pitoisuus orgaanisen aineen sulavuudella. Säilörehun pH:n ollessa välillä 4,2–4,5, kuiva-ainepitoisuus korjattiin Huidan ym. (1986) mukaan kaavalla:

Korjattu kuiva-ainepitoisuus = ODM + E + 0,9333 x FA + 0,9268 x AA + 0,9742 x PA + 0,9849 x BA + IVA + 0,2428 x LA + 0,8529 x AN,

jossa ODM = primäärinen kuiva-aine, E = etanoli, FA = muurahaishappo, AA = etikkahappo, PA = propionihappo, BA = voihiappo, IVA = isovaleriaana- ja valeriaanahappo, LA = maitohappo and AN = ammoniumtyppi.

Kuiva-aineen syönti laskettiin annetun rehun ja rehujäännöksen erotuksena. Rehujen raakavalkuaispitoisuus saatiin kertomalla kokonaistypen pitoisuus kertoimella 6,25.

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

EKM (kg) = maitotuotos x (38,3 x rasvapitoisuus + 24,2 x valkuaispitoisuus + 16,54 x laktoosipitoisuus + 20,7) / 3140.

Kuiva-aineen näennäinen sulavuus laskettiin kaavalla:

Kuiva-aineen sulavuus (g/kg) = 1 - ((AIA-pitoisuus rehussa) / (AIA-pitoisuus sonnassa))

Ravintoaineiden näennäinen sulavuus laskettiin kaavalla:

Ravintoaineiden näennäinen sulavuus (g/kg) = 1 - [((AIA-pitoisuus rehussa) / (AIA-pitoisuus sonnassa)) x ((ravintoaineiden pitoisuus sonnassa) / (ravintoaineen pitoisuus rehussa))]

Tilastollisessa analyysissä käytettiin SAS:in Mixed Proceduren versiota 9.3 (SAS Institute, Cay, NC, USA). Varianssianalyysien tilastomalli oli seuraava:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + D_k + f_{ijk},$$

jossa μ on keskiarvo, A eläimen vaikutus, P jakson vaikutus, D ruokinnan vaikutus ja f virhetermi.

Pötsifermentaation tulosten analysoinnissa tilastomalliin lisättiin ajan vaikutus:

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + D_k + T_l + D \times T_{kl} + f_{ijkl}$$

jossa μ on keskiarvo, A eläimen vaikutus, P jakson vaikutus, D ruokinnan vaikutus, T ajan vaikutus, D x T ruokinnan ja ajan yhdysvaikutus ja f virhetermi.

Koekäsittelyiden välisten erojen testaamiseen käytettiin seuraavia ortogonaalisia kontrasteja: 1. Härkäpavun vertaaminen rypsiin (rypsirouhe vs. härkäpapu), 2. Teollisen käsittelyn vaikutus (härkäpapujauhoruokinnat vs. härkäpapuruoheruokinnat), 3. Metioniini-infuusion vaikutus härkäpapuruokinnoissa (metioniini-infuusio vs. vesi-infuusio) ja 4. Teollisen käsittelyn ja metioniini-infuusion yhdysvaikutus.

Tuloksissa P-arvon ollessa $P < 0,001$ vaikutus oli erittäin merkitsevä, $P < 0,01$ hyvin merkitsevä, $P < 0,05$ merkitsevä ja $P < 0,10$ suuntaa antava.

6 TULOKSET

6.1 Rehujen kemiallinen koostumus

Säilörehun kuiva-ainepitoisuus oli 244 g/kg, sulavan orgaanisen aineen pitoisuus (D-arvo) 706 g/kg ka ja pH 4,25 (Taulukko 6). Säilörehun raakavalkuaisen pitoisuus oli 146 g/kg ka. Maitohappoa säilörehussa oli 107 g/kg ka ja vesiliukoisia hiilihydraatteja 82,0 g/kg ka.

Härkäpapu sisälsi moninkertaisesti tärkkelystä verrattuna rypsirouheeseen. Rypsirouhe sisälsi enemmän raakavalkuaista ja kokonaisrasvaa kuin härkäpapujauho tai härkäpapuruuhe. Rypsirouheen NDF-pitoisuus oli noin kaksinkertainen härkäpapuun verrattuna.

Taulukko 6. Koerehujen koostumus

	Nurmi- säilörehu	Rypsi- rouhe	Härkä- papu- jauho	Härkä- papu- rouhe	Ohra- kaura	Melassi- leike	Kiven- näinen
Kuiva-aine, g/kg	244	871	874	893	856	862	996
Kuiva-aineessa, g/kg							
Tuhka	78,7	71,7	37,0	40,4	30,4	46,5	967
NDF ¹	544	273	150	134	209	328	
Tärkkelys	3,2	9,4	333	325	480	213	
Kokonaisrasva		48,6	17,2	17,5	36,4	36,2	
Raakavalkuainen	146	381	317	346	125	128	
pH	4,25						
Maitohappo	107						
Etikkahappo	8,47						
Propionihappo	0,40						
Voihappo	<0,01						
Vesiliukoiset hiilihydraatit	82,0						
Ammoniumtyppi, g/kg N	80,8						
D-arvo ² , g/kg ka	706						

¹ Neutraalidetergenttikuitu

² Sulavan orgaanisen aineen pitoisuus

6.2 Rehujen syönti, ravintoaineiden saanti ja ravintoaineiden hyväksikäyttö

Lehmät söivät kuiva-ainetta keskimäärin 21,8 kg päivässä (Taulukko 7). Kuiva-aineen syönti lisääntyi härkäpapuruokinnoissa keskimäärin 1,6 kg ka/pv rypsirokintaan verrattuna ($P<0,05$). Härkäpapuruokinnat lisäsivät myös orgaanisen aineen syöntiä ($P<0,05$) ja raakavalkuaisen ($P<0,05$) sekä erityisesti tärkkelyksen ($P<0,001$) saantia rypsirokintaan verrattuna. Kokonaisrasvan saanti väheni härkäpapuruokinnoissa verrattuna rypsirokintaan ($P<0,001$). Härkäpavun teollisella käsittelyllä tai metioniini-infuusiolla ei ollut vaikutusta syöntiin eikä ravintoaineiden saantiin.

Raakavalkuaisen näennäinen sulavuus oli suuntaa antavasti suurempi härkäpapuruokinnoissa kuin rypsirokinassa ($P<0,10$). Kuiva-aineen, orgaanisen aineen ja NDF:n näennäissulavuuksissa ei ollut eroja koerokintojen välillä. Tärkkelyksen näennäinen sulavuus oli suuri ja se lisääntyi teollisella käsittelyllä ($P<0,05$). Numeerisesti muutos oli kuitenkin hyvin pieni. Metioniini-infuusio ei vaikuttanut rehujen sulavuuteen.

Kuntoluokat eivät vaihdelleet koekäsittelyiden välillä, kun kaikki tulokset huomioitiin tulosten laskennassa. Härkäpapuruheen teollisella käsittelyllä ja metioniini-infuusiolla saatiin kuitenkin suuntaa antava positiivinen yhdysvaikutus lehmien kuntoluokkiin ($P<0,10$). Kun aineistosta poistetaan koelehmän 1 (583 Alibi) poikkeuksellisen voimakas kuntoluokan lasku ensimmäisessä koejaksossa, härkäpapuruokinnat lisäsivät lehmien kuntoluokkaa rypsirokintaan verrattuna ($P<0,05$).

Taulukko 7. Syönti, ravintoaineiden saanti ja ravintoaineiden näennäinen sulavuus

	Ruokinta					SEM ²	Tilastollinen merkitsevyys			
	Rypsi- rouhe	Härkä- paju- jauho	Härkäpa- paju- + Met	Härkä- paju- rouhe	Härkäpa- puru- + Met		Rypsi vs. Härkäpaju ³	Jauho vs. Rouhe	Metioniini- infuusio	Yhdysvaiku- tus
	RR	HJ	HJM	HR	HRM		1	2	3	2 x 3
Ravintoaineiden saanti, kg/d										
Kuiva-aine	20,5	22,5	21,5	21,9	22,4	1,13	0,018	0,759	0,675	0,141
Orgaaninen aine	18,9	20,8	19,8	20,2	20,7	1,04	0,014	0,772	0,678	0,140
NDF ¹	8,78	9,29	8,87	8,99	9,23	0,471	0,217	0,888	0,669	0,152
Raakavalkuainen	3,35	3,60	3,44	3,55	3,64	0,182	0,042	0,367	0,680	0,149
Tärkkelys	2,26	3,21	3,07	3,12	3,20	0,155	<0,001	0,832	0,685	0,112
Kokonaisrasva	0,297	0,242	0,233	0,241	0,248	0,0135	<0,001	0,329	0,815	0,265
Näennäinen sulavuus, g/kg										
Kuiva-aine	671	671	673	684	682	10,0	0,423	0,146	0,992	0,740
Orgaaninen aine	686	683	685	697	694	10,3	0,626	0,127	0,952	0,712
NDF ¹	548	526	526	540	538	21,0	0,442	0,492	0,966	0,955
Raakavalkuainen	632	653	645	652	653	15,7	0,061	0,681	0,673	0,610
Tärkkelys	990	988	988	993	991	17,0	0,907	0,020	0,725	0,528
Kuntoluokan muutos	-0,150	0,017	-0,062	-0,090	0,025	0,0517	0,040	0,847	0,715	0,064
Kuntoluokan muutos ⁴	-0,107	0,017	-0,062	-0,090	0,025	0,0574	0,232	0,854	0,728	0,077

RR = rypsirouhe, HJ = härkäpaju-
jauho (pelkkä härkäpavun jauhatus), HJM = härkäpaju-
jauho (pelkkä härkäpavun jauhatus) + metioniini, HR =
härkäpuru-
rouhe (teollinen härkäpavun prosessointi), HRM = härkäpuru-
rouhe (teollinen härkäpavun prosessointi) + metioniini

¹ Neutraalidetergenttikuitu

² Keskiarvon keskivirhe

³ Härkäpaju: HJ, HJM, HR, HRM

⁴ Poistettu yksi poikkeava havainto (Jakso 1, käsittely RR). SEM härkäpuru-
okinnnoissa (HJ, HJM, HR, HRM) 0,0501.

6.3 Maitotuotos ja maidon koostumus

Maitotuotokset olivat kokeessa keskimäärin 27,7 kg/pv ja niissä ei ollut eroa härkäpaju- ja rypsirookintojen välillä (Taulukko 8). Härkäpavun teollinen prosessointi lisäsi suuntaa antavasti maitotuotosta 1,4 kg/pv ($P < 0,10$). Ruokinnalla ei ollut vaikutusta EKM-tuotokseen.

Koeruokinnat eivät vaikuttaneet maidon rasva- tai valkuaistuotokseen, mutta maidon valkuaispitoisuus lisääntyi härkäpapuruokinnoissa rypsirookintaan verrattuna ($P < 0,05$). Laktoosituotos oli suuntaa antavasti suurempi härkäpapuruohuruokinnoissa kuin härkäpajuhuruokinnoissa ($P < 0,10$), mutta maidon laktoosipitoisuudessa ei ollut eroa koeruokintojen välillä. Ruokinnat eivät vaikuttaneet maidon ureapitoisuuteen, joka oli keskimäärin 27,5 mg/dl.

Härkäpapuruokinnat lisäsivät maitorasvan tyydyttyneiden (SFA) ($P < 0,05$) ja lyhytketjuisten (≤ 14 -hiilisten) ($P < 0,05$) *de novo* -rasvahappojen pitoisuutta rypsirookintaan verrattuna (Taulukko 9). Rypsirookinta lisäsi vastaavasti pitkäketjuisten (≥ 18 -hiilisten) ($P < 0,01$) sekä kerta- (MUFA) ja monityydyttymättömien (PUFA) ($P < 0,05$) rasvahappojen pitoisuutta härkäpapuruokintoihin verrattuna.

Kapriinihapon (C:10) ($P < 0,05$), lauriinihapon (C12:0) ($P < 0,01$) ja palmitiinihapon (C16:0) ($P < 0,01$) pitoisuudet lisääntyivät härkäpapuruokinnoissa rypsirookintaan verrattuna. Rypsirookinta lisäsi öljyhapon (cis-9 18:1) ($P < 0,10$) ja steariinihapon (C18:0) ($P < 0,01$) pitoisuuksia verrattuna härkäpapuruokintoihin. Härkäpavun teollinen käsittely lisäsi monityydyttymättömien rasvahappojen pitoisuutta härkäpajuhuruokintoihin verrattuna ($P < 0,05$). Ruokinnan metioniinitäydennys ei vaikuttanut maidon rasvahappokoostumukseen.

Taulukko 8. Maitotuotos ja maidon koostumus

	Ruokinta					SEM ³	Tilastollinen merkitsevyys			
	Rypsi-rouhe	Härkä-papujauho	Härkä-papujauho + Met	Härkä-papurouhe	Härkä-papurouhe + Met		Rypsi vs. Härkäpapu ⁴	Jauho vs. Rouhe	Metioniini-infuusio	Yhdysvaikutus
	RR	HJ	HJM	HR	HRM		1	2	3	2 x 3
Tuotos										
Maito, kg/d	27,3	27,3	26,6	28,9	28,4	2,18	0,583	0,066	0,538	0,934
EKM ¹ , kg/d	27,5	28,1	27,4	29,0	29,3	2,59	0,383	0,155	0,865	0,573
Rasva, g/d	1194	1230	1193	1238	1271	113,8	0,392	0,297	0,964	0,389
Valkuainen, g/d	863	906	885	939	947	89,3	0,252	0,188	0,857	0,677
Laktoosi, g/d	1150	1128	1115	1221	1203	108,5	0,736	0,055	0,719	0,958
Pitoisuudet										
Rasva, g/kg	43,4	45,2	44,8	42,7	44,6	1,93	0,434	0,187	0,487	0,272
Valkuainen, g/kg	31,9	33,0	33,2	32,6	33,3	1,18	0,033	0,728	0,295	0,581
Laktoosi, g/kg	41,4	41,5	41,4	41,9	42,0	1,23	0,566	0,318	0,971	0,862
Urea, mg/dL	26,8	27,0	27,8	27,1	28,8	14,4	0,384	0,531	0,161	0,603
EKM/KA ² , kg/kg	1,33	1,25	1,28	1,31	1,30	0,71	0,266	0,263	0,830	0,563

RR = rypsirouhe, HJ = härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus), HJM = härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus) + metioniini, HR = härkäpapurouhe (teollinen härkäpavun prosessointi), HRM = härkäpapurouhe (teollinen härkäpavun prosessointi) + metioniini

¹ Energiakorjattu maito

² Kuiva-aine

³ Keskiarvon keskivirhe

⁴ Härkäpapu: HJ, HJM, HR, HRM

Taulukko 9. Maidon rasvahappokoostumus

g/100 g rasvahappoja	Ruokinta					SEM ⁶	Tilastollinen merkitsevyys, P-arvo				
	Rypsi- rouhe	Härkä- papujauho	Härkä- papujauho + Met	Härkä- papurouhe	Härkä- papurouhe + Met		Rypsirouhe vs. Härkäpapu 1	Jauho vs. Rouhe 2	Metioniini- infuusio 3	Yhdys- vaikutus 2 x 3	S-W ⁷
	RR	HJ	HJM	HR	HRM						
4:0	3,54	3,55	3,54	3,46	3,45	0,112	0,449	0,063	0,897	0,936	0,901
5:0	0,026	0,026	0,024	0,029	0,029	0,0027	0,765	0,025	0,644	0,612	0,252
6:0	2,27	2,31	2,32	2,25	2,26	0,067	0,645	0,041	0,551	0,979	0,715
7:0	0,023	0,024	0,025	0,026	0,026	0,0026	0,280	0,321	0,809	0,604	0,104
8:0	1,40	1,43	1,44	1,40	1,42	0,044	0,291	0,116	0,326	0,750	0,438
9:0	0,027	0,032	0,030	0,032	0,035	0,0039	0,029	0,136	0,967	0,199	0,426
10:0	3,22	3,42	3,44	3,32	3,43	0,108	0,040	0,452	0,303	0,481	0,194
11:0	0,337	0,368	0,374	0,376	0,382	0,0289	0,011	0,401	0,536	0,999	0,801
12:0	3,67	4,03	4,03	3,92	4,11	0,169	0,007	0,826	0,292	0,290	0,190
13:0	0,110	0,117	0,110	0,129	0,121	0,0133	0,473	0,287	0,442	0,942	0,718
<i>anteiso</i> 13:0	0,086	0,102	0,103	0,107	0,107	0,0079	0,002	0,199	0,839	0,900	0,268
<i>iso</i> 13:0	0,031	0,036	0,036	0,030	0,030	0,0024	0,326	0,003	0,889	0,915	0,550
14:0	12,6	13,0	13,0	13,0	13,2	0,27	0,118	0,601	0,666	0,539	0,371
<i>iso</i> 14:0	0,146	0,142	0,143	0,151	0,149	0,0144	0,993	0,460	0,985	0,876	0,738
<i>cis</i> -9 14:1	0,837	0,919	0,942	0,969	0,949	0,0959	0,001	0,134	0,925	0,241	0,087
15:0	1,16	1,18	1,18	1,24	1,28	0,058	0,171	0,045	0,504	0,622	0,422
<i>anteiso</i> 15:0	0,490	0,484	0,494	0,498	0,499	0,0257	0,867	0,608	0,757	0,803	0,271
<i>iso</i> 15:0 ¹	0,090 (0,298)	0,095 (0,306)	0,110 (0,329)	0,082 (0,284)	0,090 (0,295)	0,0114 (0,0189)	0,226	0,001	0,002	0,242	0,169
16:0	30,2	33,8	33,1	33,4	34,0	1,59	0,002	0,659	0,908	0,339	0,224
<i>iso</i> 16:0	0,291	0,321	0,357	0,375	0,362	0,0289	0,017	0,110	0,524	0,183	0,610
<i>cis</i> -9 16:1	1,17	1,29	1,30	1,28	1,29	0,125	0,055	0,843	0,880	0,924	0,735
<i>trans</i> -6+7+8 16:1	0,035	0,034	0,033	0,034	0,030	0,0040	0,544	0,633	0,406	0,735	0,609
<i>trans</i> -9 16:1 + <i>iso</i> 17:0	0,354	0,312	0,336	0,301	0,315	0,0168	0,016	0,160	0,104	0,647	0,829
<i>trans</i> -10 16:1	0,006	0,004	0,006	0,007	0,004	0,0017	0,726	0,723	0,714	0,106	0,117
<i>trans</i> -11 16:1	0,017	0,013	0,017	0,016	0,013	0,0032	0,503	0,838	0,893	0,258	0,678
<i>trans</i> -12 16:1	0,157	0,150	0,162	0,146	0,138	0,0117	0,467	0,114	0,773	0,266	0,382

g/100 g rasvahappoja	Ruokinta					SEM ⁶	Tilastollinen merkitsevyys, P-arvo					S-W ⁷
	Rypsi-rouhe	Härkä-papujauho	Härkä-papujauho + Met	Härkä-papuruuhe	Härkä-papuruuhe + Met		Rypsirouhe vs. Härkäpapu	Jauho vs. Rouhe	Metioniini-infusio	Yhdysvaikutus		
	RR	HJ	HJM	HR	HRM		1	2	3	2 x 3		
<i>trans</i> -13 16:1	0,013	0,010	0,012	0,011	0,008	0,0020	0,310	0,363	0,721	0,164	0,722	
17:0	0,609	0,631	0,656	0,628	0,654	0,0172	0,004	0,701	0,004	0,938	0,994	
<i>anteiso</i> 17:0	0,267	0,286	0,357	0,332	0,266	0,0474	0,370	0,565	0,958	0,093	0,620	
<i>cis</i> -9 17:1	0,158	0,154	0,169	0,156	0,150	0,0125	0,936	0,361	0,627	0,248	0,341	
18:0	11,0	9,21	9,36	9,01	8,98	0,614	0,001	0,233	0,795	0,712	0,620	
<i>iso</i> 18:0	0,039	0,037	0,038	0,036	0,036	0,0038	0,628	0,618	0,808	0,981	0,405	
<i>cis</i> -9 18:1 + <i>trans</i> -15 18:1	17,9	15,9	16,2	16,4	15,5	0,97	0,052	0,827	0,628	0,405	0,279	
<i>cis</i> -11 18:1	0,492	0,384	0,379	0,391	0,313	0,0446	0,013	0,389	0,232	0,291	0,122	
<i>cis</i> -12 18:1	0,128	0,143	0,126	0,152	0,116	0,0119	0,625	0,970	0,017	0,330	0,533	
<i>cis</i> -13 18:1 ²	-2,79 (0,067)	-2,82 (0,074)	-2,98 (0,052)	-2,59 (0,088)	-3,08 (0,048)	0,202 (0,0167)	0,700	0,681	0,053	0,302	0,081	
<i>cis</i> -15 18:1	0,027	0,032	0,021	0,026	0,020	0,0047	0,707	0,357	0,035	0,503	0,260	
<i>trans</i> -4 18:1	0,012	0,008	0,008	0,008	0,010	0,0006	0,001	0,011	0,112	0,103	0,158	
<i>trans</i> -5 18:1	0,066	0,064	0,058	0,037	0,053	0,0089	0,234	0,065	0,555	0,189	0,591	
<i>trans</i> -6+7+8 18:1	0,225	0,162	0,161	0,166	0,162	0,0130	0,001	0,702	0,734	0,840	0,993	
<i>trans</i> -9 18:1	0,166	0,116	0,116	0,114	0,105	0,0077	0,001	0,208	0,382	0,396	0,374	
<i>trans</i> -10 18:1	0,143	0,090	0,096	0,098	0,096	0,0066	0,001	0,404	0,565	0,429	0,617	
<i>trans</i> -11 18:1	1,29	0,928	0,927	0,940	0,952	0,1383	0,001	0,661	0,888	0,885	0,377	
<i>trans</i> -12 18:1	0,197	0,145	0,138	0,156	0,137	0,0159	0,001	0,330	0,023	0,231	0,108	
<i>trans</i> -13+14 18:1	0,240	0,231	0,255	0,238	0,293	0,0283	0,595	0,302	0,079	0,467	0,413	
<i>trans</i> -16 18:1 + <i>cis</i> -14 18:1	0,327	0,297	0,288	0,276	0,292	0,0279	0,091	0,604	0,854	0,461	0,098	
18:2n-6	1,02	0,990	1,04	1,03	1,02	0,0631	0,964	0,346	0,193	0,056	0,149	
<i>cis</i> -9. <i>trans</i> -11 18:2	0,500	0,380	0,387	0,433	0,441	0,0602	0,005	0,018	0,725	0,989	0,480	
<i>trans</i> -11. <i>cis</i> -15 18:2	0,281	0,251	0,250	0,266	0,269	0,0389	0,310	0,308	0,970	0,922	0,644	
18:3n-3	0,341	0,321	0,355	0,342	0,332	0,0333	0,739	0,895	0,152	0,018	0,414	
18:3n-6	0,023	0,022	0,023	0,023	0,023	0,0048	0,847	0,729	0,837	0,799	0,774	
19:0	0,130	0,106	0,109	0,126	0,109	0,0096	0,044	0,115	0,252	0,133	0,918	
20:0	0,174	0,154	0,157	0,162	0,153	0,0119	0,015	0,640	0,564	0,202	0,110	
SRR-fytanaatti	0,087	0,070	0,068	0,080	0,072	0,0088	0,028	0,108	0,246	0,539	0,137	
RRR-fytanaatti	0,037	0,033	0,032	0,035	0,026	0,0027	0,075	0,384	0,046	0,093	0,996	

g/100 g rasvahappoja	Ruokinta					SEM ⁶	Tilastollinen merkitsevyys, P-arvo					S-W ⁷
	Rypsi- rouhe	Härkä- papujauho	Härkä- papujauho + Met	Härkä- papurouhe	Härkä- papurouhe + Met		Rypsirouhe vs. Härkäpapu	Jauho vs. Rouhe	Metioniini- infusio	Yhdys- vaikutus		
	RR	HJ	HJM	HR	HRM		1	2	3	2 x 3		
<i>cis</i> -9 20:1	0,122	0,116	0,116	0,122	0,126	0,0091	0,648	0,074	0,624	0,623	0,363	
<i>cis</i> -11 20:1	0,044	0,038	0,040	0,041	0,041	0,0048	0,429	0,569	0,766	0,834	0,726	
20:2n-6	0,025	0,013	0,010	0,027	0,021	0,0046	0,164	0,010	0,265	0,701	0,954	
20:3n-3	0,008	0,006	0,007	0,007	0,008	0,0014	0,618	0,292	0,280	0,974	0,144	
20:3n-6	0,069	0,070	0,072	0,069	0,070	0,0145	0,767	0,622	0,613	0,873	0,061	
20:4n-6	0,078	0,078	0,085	0,082	0,079	0,0112	0,556	0,750	0,528	0,217	0,191	
20:5n-3 + 24:0	0,096	0,079	0,091	0,092	0,099	0,0110	0,463	0,085	0,134	0,653	0,280	
21:0	0,020	0,018	0,018	0,021	0,022	0,0020	0,778	0,019	0,790	0,577	0,329	
22:0	0,061	0,057	0,059	0,062	0,067	0,0055	0,904	0,035	0,193	0,655	0,718	
<i>cis</i> -13 22:1	0,008	0,006	0,006	0,009	0,009	0,0016	0,597	0,030	0,935	0,973	0,137	
22:4n-6	0,013	0,011	0,012	0,014	0,013	0,0031	0,945	0,390	0,988	0,712	0,260	
22:5n-3 ¹	0,004 (0,054)	0,003 (0,054)	0,004 (0,060)	0,004 (0,059)	0,004 (0,057)	0,0011 (0,0085)	0,363	0,523	0,250	0,164	0,264	
<i>cis</i> -15 24:1	0,016	0,016	0,012	0,012	0,013	0,0028	0,319	0,459	0,714	0,318	0,203	
26:0	0,053	0,047	0,048	0,055	0,056	0,0040	0,375	0,001	0,419	0,945	0,373	
Tunnistamattomat	0,711	0,733	0,719	0,784	0,808	0,0700	0,489	0,233	0,932	0,743	0,568	
<i>trans</i> -rasvahapot	4,03	3,20	3,25	3,25	3,32	0,207	0,001	0,486	0,474	0,927	0,585	
≤ 14-hiiliset rasvahapot	28,4	29,6	29,6	29,3	29,8	0,56	0,030	0,832	0,456	0,528	0,620	
≥ 18-hiiliset rasvahapot	36,3	31,4	31,8	31,9	30,9	1,59	0,002	0,812	0,731	0,412	0,409	
SFA ³	72,7	75,4	75,0	74,7	75,7	1,07	0,031	0,999	0,684	0,391	0,219	
MUFA ⁴	24,2	21,7	22,0	22,2	21,1	1,06	0,035	0,834	0,641	0,418	0,254	
PUFA ^{1,5}	5,82 (2,47)	4,87 (2,20)	5,37 (2,30)	5,63 (2,36)	5,56 (2,34)	0,560 (0,123)	0,046	0,014	0,210	0,101	0,067	

RR = rypsirouhe, HJ = härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus), HJM = härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus) + metioniini, HR = härkäpapurouhe (teollinen härkäpavun prosessointi), HRM = härkäpapurouhe (teollinen härkäpavun prosessointi) + metioniini

Datanmuunnos, jotta aineisto noudattaa normaalijakaumaa: ¹: neliöön korotus, ²: luonnollinen logaritmi

³ tyydyttyneet rasvahapot, ⁴ kertatyydyttymättömät rasvahapot, ⁵ monityydyttymättömät rasvahapot

⁶ keskiarvon keskivirhe

⁷ Aineiston normaalijakautuminen (Shapiro-Wilk -testi)

Aineistosta poistettu yhden koelehmän poikkeavat havainnot (Jakso 1, käsittely RR).

6.4 Pötsifermentaatio

Pötsin pH oli koeruokkinnoissa keskimäärin 6,45. Ruokintojen välillä ei ollut eroa pötsinesteen pH:n tai käymistuotteiden suhteen ($P > 0,10$) (Taulukko 10).

Taulukko 10. Pötsifermentaatio

	Ruokinta					SEM ²	Tilastollinen merkitsevyys				
	Rypsi-rouhe	Härkäpajauho	Härkäpajauho + Met	Härkäpajouhe	Härkäpajouhe + Met		Rypsi-rouhe vs. Härkäpajouhe	Jauho vs. Rouhe	Metioniini-infuusio	Yhdysvaikutus	Aika x käsittely
	RR	HJ	HJM	HR	HRM		1	2	3	2 x 3	
pH	6,50	6,46	6,39	6,51	6,43	0,074	0,390	0,401	0,211	0,944	0,385
VFA ¹ yhteensä, mM	97,0	99,8	102	96,7	99,7	3,40	0,443	0,375	0,401	0,843	0,517
Molaariset määrät, mmol/mol											
Etikkahappo	645	640	634	655	648	5,9	0,892	0,027	0,313	0,921	0,270
Propionihappo	191	185	187	180	185	4,8	0,230	0,423	0,511	0,784	0,067
Voihappo	104	110	115	104	106	5,2	0,428	0,107	0,448	0,744	0,060
Isovoihappo	12,2	13,2	13,1	12,1	12,1	0,66	0,295	0,009	0,866	0,975	0,186
Valeriaanahappo	14,1	14,9	14,5	14,2	14,4	0,34	0,232	0,247	0,728	0,314	0,717
Isovaleriaanahappo	7,76	8,87	8,83	7,88	8,09	0,487	0,020	0,002	0,732	0,615	0,235
Kapronihappo	25,4	27,7	26,6	27,4	26,9	0,60	0,007	0,989	0,135	0,515	0,362
Molaariset suhteet											
Etikkahappo:Propionihappo	3,43	3,48	3,40	3,67	3,53	0,110	0,446	0,153	0,335	0,773	0,163
(Etikkahappo + Voihappo): Propionihappo	3,98	4,07	4,02	4,24	4,10	0,127	0,357	0,310	0,448	0,725	0,129

RR = rypsirouhe, HJ = härkäpajouho (pelkkä härkäpavun jauhatus), HJM = härkäpajouho (pelkkä härkäpavun jauhatus) + metioniini, HR = härkäpajouhe (teollinen härkäpavun prosessointi), HRM = härkäpajouhe (teollinen härkäpavun prosessointi) + metioniini

¹ haihtuvat rasvahapot

² keskiarvon keskivirhe

6.5 Plasman energiametaboliitit

Ruokinnolla ei ollut vaikutusta plasman glukoosi-, NEFA-, BHBA- tai glukagonipitoisuuksiin (Taulukko 11). Veren vapaiden rasvahappojen pitoisuus oli keskimäärin 0,078 mmol/l ja glukoosin pitoisuus 3,69 mmol/l. β -hydroksivoihapon (BHBA) pitoisuus plasmassa oli keskimäärin 0,539 mmol/l. Härkäpavun teollinen käsittely lisäsi plasman etikkahapon määrää ($P < 0,10$) ja metioniinitäydennys plasman insuliinipitoisuutta ($P < 0,10$).

Taulukko 11. Plasman energiametaboliitit

	Ruokinta					SEM ⁴	Tilastollinen merkitsevyys			
	Rypsi-rouhe RR	Härkäpapujauho HJ	Härkäpapujauho + Met HJM	Härkäpapuruhe HR	Härkäpapuruhe + Met HRM		Rypsi vs. Härkäpapu 1	Jauho vs. Rouhe 2	Metioniini-infuusio 3	Yhdysvaikutus 2 x 3
Energiametaboliitit										
Glukoosi, mmol/l	3,75	3,67	3,67	3,72	3,66	0,121	0,298	0,746	0,591	0,666
NEFA ^{1,2} , mmol/l	0,081	0,075	0,073	0,094	0,068	0,0154	0,826	0,577	0,264	0,359
Etikkahappo, mmol/l	1,28	1,22	1,16	1,31	1,53	0,127	0,864	0,074	0,492	0,266
BHBA ³ , mmol/l	0,519	0,555	0,533	0,515	0,571	0,0555	0,585	0,786	0,948	0,317
Insuliini, µIU/l	20,3	16,9	22,2	14,6	21,7	3,58	0,690	0,673	0,074	0,782
Glukagoni, µIU/l	131	132	123	138	144	15,4	0,7389	0,163	0,887	0,414

RR = rypsirouhe, HJ = härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus), HJM = härkäpapujauho (pelkkä härkäpavun jauhatus) + metioniini, HR = härkäpapuruhe (teollinen härkäpavun prosessointi), HRM = härkäpapuruhe (teollinen härkäpavun prosessointi) + metioniini

¹ Poistettu yksi poikkeava havainto (Jakso 1, käsittely RR).

² vapaat rasvahapot

³ β-hydroksibutyyraatti

⁴ keskiarvon keskivirhe

7 TULOSTEN TARKASTELU

7.1 Rehut ja syönti

Tutkimuksessa käytetty säilörehu oli hyvin sulavaa (D-arvo 706 g/kg ka) ensimmäisen sadon rehua. Ensimmäisen säilörehusadon ruokinnallinen arvo on yleensä hyvä (Huhtanen ym. 2007), ja Mannisen (2011) tutkimuksessa säilörehun D-arvon suurentuminen lisäsi Hereford-sonnien kuiva-aineen syöntiä. Säilörehun NDF-pitoisuus (544 g/kg ka) tasapainotti hyvin sulavaa rehua. Raakavalkuaispitoisuus (146 g/kg ka) oli myös tarpeeksi suuri, sillä Jaakkolan ym. (2010) mukaan tavoiteltava säilörehun rv-pitoisuus on 130–170 g/kg ka.

Säilörehun edellä mainituista sulavuus- ja koostumusarvoista huolimatta lehmien keskimääräinen kuiva-aineen syönti (21,8 kg ka/pv) ei yltänyt etukäteen oletetun syönnin (23 kg ka/pv) tasolle. Syöntiin on mahdollisesti voinut vaikuttaa pyöröpaalisäilörehun tavanomaista pienempi kuiva-ainepitoisuus (244 g/kg). Säilörehun todellinen kuiva-ainepitoisuus on saattanut olla tätäkin pienempi, sillä osa säilörehupaalin nesteestä valui usein pois paalin käsittelyssä. Huhtasen ym. (2007) mukaan kuiva-ainepitoisuuden nousu suurentaa syönti-indeksiä käyräviivaisesti, kunnes saavuttaa maksimin kuiva-ainepitoisuuden ollessa 420 g/kg. Myös Jacksonin ym. (1970) tutkimuksessa säilörehun kuiva-ainepitoisuuden ollessa 273 g/kg syönti jäi pienemmäksi kuin kuiva-aineen ollessa 323 g/kg ja 432 g/kg.

Syöntiin saattoi vaikuttaa myös säilörehun käymisaste. Suuri maitohappopitoisuus (107 g/kg ka) kertoi pitkälle käyneestä säilörehusta. Säilörehussa oli kuitenkin myös sokeria jäljellä. Maitohapon suuri määrä etikkahappoon verrattuna aiheutuu Huhtasen ym. (1997b) mukaan käymisen homofermentatiivisuudesta eli käymisreaktio oli lähes kokonaan maitohappobakteerien aikaansaamaa. Säilörehun suuri maitohappopitoisuus vähensi kuiva-aineen syöntiä Heikkilän ym. (1998) kokeessa ja negatiivinen vaikutus havaittiin myös Thomasin ym. (1980) sekä Choungin ja Chamberlainin (1993) tutkimuksissa.

Säilörehun sekundäärinen käyminen vähentää lypsylehmien maitotuotosta, EKM-tuotosta sekä maidon rasva- ja valkuaispitoisuutta. Tämä johtuu erityisesti siitä, että

säilörehun ammoniakkipitoisuuden ja happojen kokonaismäärän lisääntyessä lehmien kuiva-aineen syönti vähenee (Rinne ym. 2008). Tutkimuksessa säilörehun ammoniumtypen osuus kokonaistypestä (80,8 g/kg N) oli Artturi-analyysin (Nyholm 2019) ohjeellista arvoa (alle 40 g/kg N) suurempi. Ammoniumtypen osuus lisääntyy valkuaisen hajotessa aminohapoiksi ja ammoniakiksi ja vähentää samalla säilörehun valkuaisen ruokinnallista laatua. Lisääntynyt ammoniumtyypipitoisuus alentaa McDonaldin ym. (2011) mukaan maittavuutta ja vähentää vapaaehtoista syöntiä. Tässä tutkimuksessa ammoniumtypen pitoisuus ei todennäköisesti kuitenkaan vaikuttanut syöntiin kovin paljon, sillä Moision ym. (1992, s. 144) mukaan enintään 80 g/kg N ammoniumtypeä ei yleensä vaikuta rehun syöntiin.

Kuiva-ainepitoisuuteen suhteutettuna säilörehun pH (4,25) oli hiukan liian suuri, sillä tavoitteellinen pH olisi Valion Artturi-analyysin (Nyholm 2019) mukaan ollut alle 4,10. Säilörehun pH:n jääminen liian suureksi on riski virhehäymiselle, mutta tässä kokeessa rehun säilönnällinen laatu oli kuitenkin hyvä. Säilörehun haihtuvien rasvahappojen (VFA) määrä oli vähäinen ja virhehäymisestä kertovaa voihappoa ei ollut säilörehussa ollenkaan. Rehu oli myös aistinvaraisesti arvioituna hyvälaatuista.

Vastoin odotuksia kuiva-aineen syönti lisääntyi härkäpapuruokinnoissa rypsiaruokintaan verrattuna. Rypsi on täydennysvalkuaisena ollut kotimaisissa tutkimuksissa yleensä hyvin maittavaa ja lisännyt kuiva-aineen syöntiä ja maitotuotosta (Huhtanen 1998, Huhtanen ym. 2011). Härkäpapuruokintojen suurempi tärkkelys- ja energiapitoisuus lisäsivät mahdollisesti kokeessa kuiva-aineen syöntiä, kun dieetin aminohappojen ja energian suhde oli tasapainoisempi. Lisääntynyt kuiva-aineen syönti voi olla myös seurausta kuidun nopeammasta sulatuksesta pötsissä (Oldham 1984), kun pötsimikrobit saivat enemmän energiaa härkäpapuruokinnoissa.

Tutkimuksen suunnittelussa oli huomioitu rypsiaruokintaan verrattuna suurempi raakavaluapitoisuus härkäpapuruokintaan ja käsittelyt olivat isonitrogeenisia. Kokeen todellinen raakavaluapitoisuuden saanti oli kuitenkin suurempi härkäpapuruokinnassa, sillä seosrehun syönti lisääntyi härkäpapuruokinnassa rypsiaruokintaan verrattuna. Myös tärkkelyksen saanti oli selvästi suurempi härkäpapuruokinnassa. Rypsiaruokinnassa raakarasvan saanti lisääntyi härkäpapuruokintaan verrattuna, mutta tästä huolimatta lehmät saivat enemmän energiaa härkäpapuruokinnassa kuin rypsiaruokinnassa.

Väkirehukomponenttien koostumukset olivat rehutaulukoissa (Luke 2020) ilmoitettujen arvojen mukaisia. Maltillinen väkirehuprosentti (38 %) saattoi vaikuttaa rehun maittavuuteen ja kuiva-aineen syöntiin. Huhtasen ja Hetan (2012) sekä Owensin ja Sapienzan (2014) meta-analyyseissa rehun raakavalkuaispitoisuuden lisääntyessä myös kuiva-aineen syönti lisääntyi lineaarisesti. Syönnin lisäys johtuu todennäköisesti lisääntyneestä energiantarpeesta maitotuotoksen kasvaessa (Huhtanen ym. 2011).

Infuusio vähensi lehmien kuiva-aineen syöntiä etenkin kokeen alussa. Syönnin väheneminen on havaittu myös aikaisemmissa infuusiokokeissa (Huhtanen ym. 1997a), minkä takia tutkimuksissa käytetään usein vesi-infuusiota kontrollikäsittelyissä. Tällöin infuusio ei vaikuta tuloksiin käsittelyiden välillä (Larsen ym. 2014). Tässä tutkimuksessa myös ne lehmät, jotka eivät saaneet koekäsittelyssään metioniinia, saivat infuusiona vettä, joten infuusion vaikutus oli sama kaikilla koelehmillä. Syönnin väheneminen oli kuitenkin osalla lehmistä voimakasta, jolloin syöntiä yritettiin kokeessa parantaa vaihtamalla alkuperäinen painavampi (300 g) letkun pään punnus kevyempään (150 g) punnukseen. Aikaisempien tutkimusten vastaisesti metioniini-infuusio ei lisännyt lehmien kuiva-aineen syöntiä vesi-infuusioon verrattuna. Juokutusmahaan infusoitu valkuainen lisäsi syöntiä pötsin valkuaisinfuusioon verrattuna Huhtasen ym. (2002) tutkimuksessa ja pötsin valkuais- tai glukoosi-infuusioon verrattuna Faverdinin ym. (2003) tutkimuksessa.

Infuusion käyttäminen kokeessa oli kuitenkin perusteltu päätös siitä huolimatta, että pötsisuojaattua metioniinia käyttämällä kuiva-aineen syönti olisi todennäköisesti ollut suurempi. Tämä johtuu siitä, että kaupallisten pötsisuojaattujen aminohappojen suojauksen tehoa ei ole pystytty varmuudella määrittämään (Lee ym. 2015). Tällöin myöskään ohutsuolessa imeytyvän metioniinin tarkkaa määrää ei olisi saatu mitattua.

7.2 Sulavuus ja pötsikäyminen

Raakavalkuaisen näennäinen sulavuus lisääntyi suuntaa antavasti härkäpapuruokinnoissa rypsirokuokintaan verrattuna. Tulos oli odotusten vastainen, sillä Luonnonvarakeskuksen rehutaulukoiden (Luke 2020) mukaan härkäpavun siemenien ja rypsirouheen raakavalkuaisen näennäissulavuudet ovat suunnilleen yhtä suuret (85 % vs. 84 %). Valkuaisen sulavuus lisääntyi härkäpapuruokinnoissa todennäköisesti seurauksena

suuremmasta raakavalkuaisen saannista. Pötsin isovaleriaanahapon pitoisuus pysyi muuttumattomana, mikä tarkoittaa, että pötsin valkuaisen hajotuksessa tai mikrobivalkuaisen tuotannossa ei ollut suuria muutoksia ruokintojen välillä (Huhtanen ym. 1996). Eroa ei ollut myöskään kuiva-aineen, orgaanisen aineen ja NDF:n näennäissulavuuksissa, mikä osoittaa, että pötsissä on ollut toimivaa mikrobifermentaatiota kaikissa ruokinnoissa.

Tärkkelyksen näennäinen sulavuus oli odotusten mukaisesti suuri, ja sekä rypsi- että härkäpapuruokinnoissa tärkkelyksen sulavuus oli lähes täydellistä. Härkäpavun tärkkelyksen sulavuus oli jopa suurempi kuin Offnerin ym. (2003) sekä Moharreryn ym. (2014) tutkimuksissa, joissa härkäpavun tärkkelyksen sulavuus oli yli 70 %. Tärkkelyksen sulavuus lisääntyi teollisella käsittelyllä, mikä saattoi johtua lämpökäsittelyn vaikutuksesta tärkkelyksen rakenteeseen, kun tärkkelys gelatinisoitui lämmön ja kosteuden yhteisvaikutuksesta. Vaikutus oli kuitenkin pieni, härkäpapuruohuokinnassa tärkkelystä sulii 3 grammaa enemmän kuin härkäpapujauhuokinnassa, eikä sillä ollut käytännön merkitystä. Larsenin ym. (2009) tutkimuksessa valssimurskaus vähensi palkoviljojen tärkkelyksen sulavuutta jauhatukseen verrattuna. Valssauksessa ei kuitenkaan ollut lämpökäsittelyä, joten sulavuuden lisääntyminen oli todennäköisesti seurausta vain palkoviljojen pienemmästä partikkelikoosta.

Pötsin haihtuvien rasvahappojen osuudet olivat tyypilliset rajoittuneesti käyneeseen säilörehuun ja pieneen väkirehuprosenttiin perustuvassa ruokinnassa. Jenningsin ym. (1984) mukaan karkearehualtaisessa ruokinnassa etikkahapon osuus pötsin VFA:sta on 60–70 %, propionihapon 15–20 % ja voihiapon 10–15 %. Haihtuvien rasvahappojen kokonaismäärä jäi tutkimuksessa melko pieneksi, mikä on todennäköisesti seurausta vähäisestä kuiva-aineen syönnistä (Huhtanen 1998). Koekäsittelyt eivät odotusten vastaisesti vaikuttaneet pötsin haihtuvien rasvahappojen osuuksiin. Lisääntynyt energia on usein tutkimuksissa lisännyt propionihapon ja vähentänyt voihiapon osuutta pötsin haihtuvista rasvahapoista (Harrison ym. 1992, Miettinen ja Huhtanen 1996), mikä olisi saattanut näkyä härkäpapuruokinnoissa lisääntyneen seosrehun syönnin seurauksena. Karkearehun osuus säilörehusta oli kuitenkin suuri, joten lisääntynyt syönti lisäsi todennäköisesti myös pötsin etikka- ja voihiapon määrää. Teollinen prosessointi ei vaikuttanut pötsifermentaatioon, joten mikrobeille jäi todennäköisesti riittävästi energiaa ja valkuaista pötsin toiminnan ylläpitoon myös härkäpapuruohuokinnassa.

Pötsimikrobit pystyvät vain rajoitetusti hyödyntämään säilörehun käymistuotteita energianlähteenään, joten rajoitetusti käynyt säilörehu lisää yleensä pötsin mikrobivalkuaisen tuotantoa ja typen kulkeutumista ohutsuoleen verrattuna pitkälle käyneeseen säilörehuun (Chamberlain 1987, Jaakkola ym. 1991). Useissa tutkimuksissa on todettu, että rajoitettu käyminen lisää pötsin etikka- ja voihapon tuotantoa ja säilörehun maitohappo taas propionihapon osuutta pötsin haihtuvista rasvahapoista (Jaakkola ym. 1991 ja 1993, Huhtanen 1993). Jaakkolan ja Huhtasen (1992) mukaan säilörehun maitohappo ei heikennä kuidun sulatusta, joten voidaan olettaa, että säilörehun maitohappo ei todennäköisesti vaikuttanut kuidun sulatukseen ja sitä kautta seosrehun syöntiin tässä tutkimuksessa. Säilörehun suuri sokeripitoisuus on sen sijaan vähentänyt solunseinämähiilihydraattien hajotusta jopa laskematta pötsin pH:ta (Huhtanen 1987, Rooke ym. 1987), mutta tässä tutkimuksessa säilörehun sokeripitoisuus ei ollut suuri.

Koeruokinnat eivät vaikuttaneet pötsin pH:n arvoon, joka oli kokeessa keskimäärin 6,45. Pötsin pH oli tyypillinen karkearehuvaltaisessa ruokinnassa oleville lehmille, ja suhteellisen suuri, vaikka kokeen säilörehu sisälsi runsaasti maitohappoa. Maitohapon vaikutus pötsin happamuuteen oli vähäinen myös Jaakkolan ym. (1991, 1993) tutkimuksissa, mikä johtuu todennäköisesti syljen tehokkaasta neutraloinnista ja maitohapon nopeasta fermentaatiosta pötsissä (Chamberlain ym. 1983). Pötsin pH oli optimaalinen kuidun sulatuksen ja pötsimikrobien toiminnan kannalta, sillä Kungin (2014) mukaan kuidun sulatus pötsissä on tehokkainta, kun pötsin pH on suurempi kuin 6,2. Tässä tutkimuksessa pötsin happamuus ei vaikuttanut rehun syöntiin, sillä Nordlundin ja Garrettin (1994) mukaan kuiva-aineen syönti heikkenee pötsin pH:n laskiessa pienemmäksi kuin 5,8.

Metioniini-infuusiolla ei ollut vaikutusta pötsikäymiseen eikä ravintoaineiden sulavuuteen. Tulos on yhtenevä aikaisempien tutkimusten kanssa, joissa aminohappoa on infusoitu pötsin ohi juoksutusmahaan (Vanhatalo ym. 1999, Varvikko ym. 1999). Tämä osoittaa, että infuusiolla ei ollut vaikutusta perusdieetin ravintoaineiden saantiin tai hyväksikäyttöön (Vanhatalo ym. 1999).

7.3 Maitotuotos ja maidon pitoisuudet

Lehmien maitotuotokset vähenivät kokeen aikana ja jäivät oletettua pienemmiksi. Tuotoksen väheneminen vaihteli yksilöllisesti lehmien välillä. Heikentyneeseen maitotuotokseen vaikuttivat mahdollisesti energian puute (vähäinen kuiva-aineen syönti ja seosrehun pienehkö väkirehuprosentti), kokeen ja infuusioiden aiheuttama stressi sekä ongelmat utareterveydessä. Erityisesti vähäinen seosrehun syönti todennäköisesti vähensi maidon tuotantoa, sillä Hristovin ym. (1994) mukaan kuiva-aineen syönti on tärkein maitotuotokseen vaikuttava tekijä. Maitotuotosten vaihtelu lisäsi tulosten keskivirhettä (SEM), minkä takia numeraalisesti suuretkaan muutokset eivät nousseet tilastollisesti merkitseviksi.

Maitotuotoksen suuntaa antava lisääntyminen härkäpavun teollisella käsittelyllä oli seurausta parantuneesta rehun hyväksikäytöstä, sillä seosrehun syönti ja ravintoaineiden saanti pysyivät yhtä suurina kuin muissakin koekäsittelyissä. Lämpökäsittely lisäsi maitotuotosta todennäköisesti vähentämällä härkäpavun valkuaisen ja tärkkelyksen pötsisulavuutta ja lisäämällä ohutsuolisulavuutta sekä glukoosin ja aminohappojen imeytymistä ohutsuoletta. Lämpökäsittely muodosti Maillardin reaktiossa glukoosin ja aminohappojen yhdisteitä, joita pötsimikrobit pystyivät vain rajoitetusti hyödyntämään. Pötsimikrobeille jäi kuitenkin käsittelystä huolimatta riittävästi energiaa ja valkuaista pötsifermentaatiota varten, sillä lämpökäsittely ei heikentänyt kuiva-aineen ja kuidun sulatusta härkäpapuruoheruokinnossa. Härkäpavun tärkkelyksen pötsi- ja ohutsuolisulavuutta sekä valkuaisen Cornellin typpifraktioiden muutoksia ei esitetä tässä tutkielmassa.

Lisääntynyt kuiva-aineen syönti ja energian saanti lisäsivät todennäköisesti maidon valkuaispitoisuutta härkäpapuruokinnossa. Härkäpapuruokinnossa oli myös runsaasti tärkkelystä, joka mahdollisesti lisäsi ohutsuolessa imeytyvää glukoosia sekä pötsimikrobien energiansaantia ja mikrobivalkuaisen tuotantoa verrattuna rypsirookintaan. Useiden tutkimusten mukaan pötsin propionihapon määrän lisääntyessä suhteessa voihiappoon plasman glukoosipitoisuus ja maidon valkuais- ja laktoosituotos lisääntyvät (Harrison ym. 1992, Miettinen ym. 1996). Lypsylehmällä propionaatti on merkittävin glukoosin esiaste glukoneogeneesissä, jolloin sen puute rypsirookinnassa saattoi johtaa aminohappojen hajotukseen glukoosin tuotantoa varten (Miettinen ym. 1996). Pötsin fermentaatiotuotteissa ei kuitenkaan ollut eroa ruokintojen välillä.

Härkäpapuruokinnat ja lisääntynyt raakavalkuaisen saanti todennäköisesti tehostivat maitorauhasen kaseiinisynteesiä, sillä ruokinta ei vaikuttanut maidon ureapitoisuuteen (Nousiainen ym. 2004). Schwabin ym. (1996) tutkimuksessa maidon kaseiinipitoisuus lisääntyi ja heran sekä NPN-typen pitoisuus pysyi muuttumattomana, kun aminohappoja infusoitiin pötsifistelin kautta lehmien juoksutusmahaan. Valkuaistuotoksen lisääntyminen aminohappoja infusoitaessa on useissa kokeissa ollut seurausta maidon valkuaispitoisuuden suurenemisesta, sillä lehmien maitotuotos on kokeissa pysynyt samana (Pisulewski ym. 1996, Schwab ym. 1996). Tässä kokeessa metioniini-infuusio ei kuitenkaan vaikuttanut hypoteesin vastaisesti maidon valkuaispitoisuuteen tai valkuaisuutukseen. Koska metioniinilisälle ei saatu tuotosvastetta, voidaan päätellä, että metioniini ei rajoittanut maidontuotantoa näillä ruokinnoilla. Maidon ureapitoisuus viittasi riittävään raakavalkuaisen saantiin, sillä Munyanezan ym. (2017) mukaan maidon ureapitoisuuden ollessa 10–16 mg/dL valkuaisen saanti ei rajoita tuotosta. Ensimmäisenä maitotuotosta rajoitti tutkimuksessa mahdollisesti glukoosi, jonka on todettu usein olevan maidontuotantoa ensimmäisenä rajoittava tekijä rajoittuneesti käyneeseen säilörehuun perustuvassa ruokinnassa (Miettinen ym. 1997).

Säilörehun laatu vaikuttaa maidon komponenteista eniten maidon rasvapitoisuuteen. Rajoittuneesti käynyt säilörehu on tutkimuksissa lisännyt maidon rasvapitoisuutta pitkälle käyneeseen säilörehuun verrattuna (van Vuuren ym. 1995). Rajoittuneesti käynyt säilörehu lisää pötsimikrobien lipogeenisten rasvahappojen (etikka- ja voiapon) tuotantoa, joita maitorauhanen käyttää *de novo* -synteesissä (Miettinen ym. 1997). Pitkälle käyneessä säilörehussa maitohappo lisää pötsin propionihapon ja vähentää lipogeenisten rasvahappojen tuotantoa (van Vuuren ym. 1995). Tässä tutkimuksessa maidon rasvapitoisuus pysyi ennallaan säilörehun maitohaposta huolimatta, sillä vähäinen maitotuotos mahdollisti maidon rasvapitoisuuden pysymisen muuttumattomana. Maidon rasvatuotos ei vaihdellut myöskään ruokintojen välillä, mikä on yhtenevä tulos muuttumattoman pötsifermentaation kanssa. Lehmien kuntoluokka kuitenkin pieneni rypsirookinnassa verrattuna härkäpapuruokintoihin, joten lehmät ovat hyödyntäneet kudosrasvojaan energiaksi ja maitorasvan pitkäketjuisiksi rasvahapoiksi.

Metioniini on tärkeä osa maidon rasvasynteesiä ja Vanhatalon ym. (1999) tutkimuksessa metioniini-infuusio lisäsi maidon rasvapitoisuutta 1,8 g/kg vaikuttamatta maitotuotukseen. Metioniini- ja koliini-infuusiot lisäsivät maidon rasvapitoisuutta myös

Sharman ym. (1988) ja Varvikon ym. (1999) tutkimuksissa. Tässä tutkimuksessa ruokinnan metioniinitäydennys ei vaikuttanut maidon rasvatuotokseen tai -pitoisuuteen.

Maidon laktoosituotoksen suuntaa antava lisääntyminen härkäpapuruoheruokinnassa oli linjassa lisääntyneen maitotuotoksen kanssa. Ruokinnat eivät kuitenkaan odotetusti vaikuttaneet maidon laktoosipitoisuuteen. Vaikka voihapon osuuden lisääntyminen pötsin haihtuvista rasvahapoista vähensi maidon laktoosipitoisuutta Miettisen ja Huhtasen (1996) tutkimuksessa, ruokinnan vaikutukset maidon laktoosipitoisuuteen ovat kuitenkin yleensä vähäisiä (Huhtanen ym. 1997b).

7.4 Maidon rasvahappokoostumus

Koeruokinnat vaikuttivat hypoteesin vastaisesti maidon rasvahappokoostumukseen siitä huolimatta, ettei ruokinnan rasvahappojen kokonaissaanti ollutkaan kovin suuri. Maitorasvan rasvahappoja on tunnistettu yli 500 erilaista, ja ne ovat peräisin rehun rasvahapoista, maitorauhasen *de novo* -synteesistä, rasvakudoksen mobilisoinnista tai pötsimikrobien biohydrogenaatiosta (Shingfield ym. 2010). Maitorauhanen syntetisoi *de novo* -synteesissään hiiliketjultaan lyhyt- ja keskipitkäketjuisia rasvahappoja, mutta ei pysty valmistamaan 18-hiilisiä tai sitä pidempiketjuisia rasvahappoja. Maitorasvan pitkäketjuiset rasvahapot ovat useimmiten peräisin ruokinnasta, mutta niitä voivat lisätä myös lehmän kudosasrasvojen hajotus energiaksi negatiivisessa energiataseessa (Chilliard ym. 2007).

Härkäpapuruokinnat vähensivät maitorasvan pitkäketjuisten (≥ 18 -hiilisten) kerta- ja monityydyttymättömien rasvahappojen pitoisuutta, mikä oli linjassa pienemmän rasvahappojen saannin kanssa. Rypsiruoikinnassa pitkäketjuisten rasvahappojen määrä vastaavasti lisääntyi, ja muutokset olivat samansuuntaisia rypsirouheen rasvahappokoostumuksen kanssa. Yhteneviä tuloksia saatiin myös Kaireniuksen ym. (2008) tutkimuksessa, jossa rypsiruoikinta lisäsi pitkäketjuisten, kerta- ja monityydyttymättömien rasvahappojen osuutta maitorasvassa. Rypsirouhe sisältää runsaasti öljyhappoa (cis-9 18:1), jonka pitoisuus maidossa lisääntyikin rypsiruoikinnassa suuntaa antavasti härkäpapuruokintoihin verrattuna. Härkäpavun runsas linolihapon (C18:2n-6) pitoisuus ei vaikuttanut maitorasvan linolihapon määrään, mikä saattoi olla seurausta vähäisestä rasvahappojen kokonaissaannista härkäpapuruokinnassa. Tulos oli ristiriidassa Kaireniuksen ym. (2008) tutkimuksen kanssa, jossa rypsirasvan lisääminen

vähensi maitorasvan linolihapon pitoisuutta kontrolliruokintaan verrattuna. Linolihapon määrään saattoi vaikuttaa myös pötsin voimakas biohydrogenaatio, jolloin pötsimikrobit hajottavat linohapon kaksoissidoksia muodostaen tyydyttynyttä steariinihappoa (C18:0).

Koelehmät laihtuivat rypsiaruokinnassa, mikä saattoi myös lisätä maidon pitkäketjuisten rasvahappojen pitoisuutta verrattuna härkäpapuruokintoihin. Negatiivisessa energiataasessa lehmät purkavat rasvavarastojaan, mikä lisää steariini- ja öljyhapon osuutta maitorasvassa (Chilliard 2001). Yksi koelehmistä (583 Alibi) jouduttiin tästä syystä poistamaan ensimmäisen jakson aineistosta, sillä voimakas laihtuminen lisäsi erityisesti öljyhapon ja steariinihapon pitoisuutta tuloksissa suhteettoman paljon. Steariinihapon pitoisuuden lisääntyminen rypsiaruokinnassa saattoi vaikuttaa myös öljyhapon pitoisuuteen, sillä $\Delta 9$ -desaturaasientsyymi muodostaa maitorauhasessa steariinihaposta öljyhappoa (Palmqvist ym. 2005, Shingfield ym. 2010). Chilliardin ym. (2000) mukaan 40 % maitorauhasen ottamasta steariinihaposta desaturoituu maitorauhasessa öljyhapoksi.

Vaikka palmitiinihappo (C16:0) on yksi rasvakudoksen kolmesta tärkeimmästä rasvahaposta, sen määrä maidossa yleensä jopa hiukan laskee lehmän mobilisoidessa rasvakudostaan. Tämä johtuu *de novo* -synteesin vähenemisestä, jolloin kokonaisvaikutus palmitiinihapon määrään on negatiivinen (Grummer 1991). Tämä saattaa selittää suuremman maidon palmitiinihappopitoisuuden tämän kokeen härkäpapuruokinnoissa. Palmitiinihapon määrän väheneminen rypsiaruokinnassa havaittiin myös Kaireniuksen ym. (2008) tutkimuksessa. Pötsin etikka- ja voihiapon määrän väheneminen vähensi palmitiinihapon osuutta Huhtasen ym. (1996) tutkimuksessa, mutta tässä tutkimuksessa pötsin haihtuvat rasvahapot eivät vaikuttaneet maidon rasvahappokoostumukseen. Maitorauhasen $\Delta 9$ -desaturaasientsyymi muodostaa palmitiinihaposta palmitoleiinihappoa (cis-9 16:1) (Palmqvist ym. 2005, Shingfield ym. 2010), mutta palmitiinihaposta poiketen palmitoleiinihapon pitoisuuksissa ei ollut eroa ruokintojen välillä.

Lisääntynyt pitkäketjuisten tyydyttämättömien ja monitydyttämättömien rasvahappojen saanti inhiboi maitorauhasen *de novo* -synteesiä (Chilliard ym. 2000), minkä seurauksena maitorasvan lyhyt- ja keskipitkäketjuisten tyydyttyneiden rasvahappojen määrä lisääntyi härkäpapuruokinnoissa. Lähes kaikki maitorasvan lyhytketjuiset (C:4-C:10) rasvahapot ja suuri osa keskipitkäketjuisista rasvahapoista ovat peräisin maitorauhasen *de novo* –

synteesistä (Baer 1996). *De novo* -synteesin väheneminen vaikutti eniten kapriinihapon (C:10) ja lauriinihapon (C12:0) pitoisuuksiin. Samansuuntaisia tuloksia saatiin myös Kaireniuksen ym. (2008) tutkimuksessa, jossa rypsin kasviöljyt vähensivät maidon lauriinihapon (C12:0) ja myristiinihapon (C14:0) pitoisuuksia.

Maitorauhasen rasvahapposynteesiä saattoi tehostaa myös lisääntynyt seosrehun syönti härkäpapuruokinnoissa, kun *de novo* -synteesin lähtöaineiden asetaatin ja β -hydroksibutyraatin määrä on lisääntynyt pötsin mikrobisulatuksen seurauksena (Grummer 1991). Härkäpapuruokinnoissa oli runsaasti tärkkelystä, mikä on tutkimuksissa vähentänyt maidon rasvapitoisuutta ja erityisesti lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuutta (Palmquist ym. 1993). Tässä tutkimuksessa seosrehun väkirehun osuus oli kuitenkin pieni suhteessa karkearehuun, joten tärkkelyksen saanti ei todennäköisesti vähentänyt maitorauhasen *de novo* -synteesiä.

Härkäpavun teollinen käsittely lisäsi maitorasvan monityydyttymättömien rasvahappojen pitoisuutta, mikä saattoi olla seurausta härkäpavun vähentyneestä pötsisulavuudesta ja pötsimikrobien energian saannista. Mikrobit hajottavat pötsissä rasvahappojen kaksoissidoksia energiakseen (Shingfield ym. 2008), ja lisääntynyt mikrobiaktiivisuus härkäpapujauhoruokinnoissa lisäsi todennäköisesti myös rasvahappojen saturaatiota pötsissä. Lisäksi pötsin pH voi vaikuttaa monityydyttymättömien rasvahappojen synteesiin (Shingfield ym. 2008), mutta tässä tutkimuksessa ruokinnat eivät vaikuttaneet pötsikäymiseen.

7.5 Plasman energiametaboliitit

Chilliardin ym. (2000) mukaan erityisesti korkeatuottoiset lehmät ovat usein pitkiä aikoja negatiivisessa energiataseessa ja mobilisoivat rasvakudoksen pitkäketjuisia rasvahappoja. Tämä lisää plasman vapaita rasvahappoja ja lipoproteiineja (erityisesti VLDL), joita lehmä kykenee hyödyntämään maitorauhasen rasvasynteesissä.

Ruokinnoilla ei ollut vaikutusta plasman glukoosin ja veren vapaiden rasvahappojen pitoisuuksiin. Valtimoveren NEFA-pitoisuus (0,078 mmol/l) oli tyypillinen karkearehuvaltaisessa ruokinnassa oleville keskilaktaatiassa ja positiivisessa energiataseessa oleville lehmille. Samanlaisia tuloksia on saatu myös esimerkiksi

Miettisen ym. (1997) tutkimuksessa. Drackley'n (1999) mukaan positiivisessa energiataseessa lypsylehmän plasman NEFA-pitoisuus on alle 0,2 mmol/l.

Propionihaposta suurin osa imeytyy pötsin seinämän läpi sellaisenaan, pieni osa propionihaposta muuttuu myös maitohapoksi (Thomas ym. 1984). Seinämän läpi imeytynyt propionihappo kulkeutuu verenkierron mukana maksaan, jossa siitä valmistetaan glukoosia. Tässä kokeessa plasman glukoosipitoisuus (3,69 mmol/l) oli myös tyypillinen rajoitetusti käyneeseen säilörehuun perustuvassa ruokinnassa (Miettinen ym. 1997). Jos pötsin propionihapon pitoisuuksissa olisi ollut eroja ruokintojen välillä, ne olisivat voineet vaikuttaa myös plasman glukoosipitoisuuteen.

Etikkahappo kulkeutuu pötsistä maksaan lähes muuttumattomana. Lisäksi maksa hajottaa pitkäketjuisia rasvahappoja (endogeeniseksi) etikkahapoksi (Thomas ym. 1984). Jos lehmä mobilisoi runsaasti rasvavarastojaan, pitkäketjuisten rasvahappojen määrä veressä nousee ja myös endogeenisen etikkahapon suhteellinen määrä lisääntyy (Costa ym. 1976). Plasman etikkahapon määrä oli koelehmillä suuntaa antavasti suurempi härkäpapuruoheruokinnassa, mikä voi olla osoitus pötsin etikkahapon suuremmasta määrästä. Tässä kokeessa pötsin etikkahapon pitoisuus ei kuitenkaan vaihdellut ruokintojen välillä.

Suurin osa β -hydroksivoihaposta (BHBA) muodostuu voihaposta pötsin seinämässä (Jennings ym. 1984). Paastotilanteessa myös maksa hajottaa pitkäketjuisia rasvahappoja β -hydroksivoihapoksi (Baird 1981). Suuri BHBA-pitoisuus voisi kertoa riittämättömästä energiansaannista ja energian tuottamisesta ketoaineiden kautta, mutta tässä kokeessa β -hydroksivoihapon pitoisuus (0,539 mmol/l) plasmassa oli normaali (alle 1,0 mmol/l) (Duffield 2000), eikä siinä ollut eroa ruokintojen välillä.

Metioniinitäydennys lisäsi suuntaa antavasti plasman insuliinipitoisuutta, mutta insuliinin vastavaikuttaja glukagonin pitoisuus pysyi muuttumattomana. Lisääntynyt insuliinipitoisuus saattoi olla seurausta metioniinin hajotuksesta glukoosin tuotantoon.

Lehmien kuntoluokka oli todennäköisesti heikentyneen seosrehun syönnin takia pienempi rypsiaruokinnassa härkäpapuruokintoihin verrattuna. Lehmien elopaino pysyi kuitenkin suunnilleen samana kokeen aikana, joten vähäinen energiansaanti vaikutti enemmän maitotuotukseen kuin lehmien energiataseeseen. Poikkeuksena oli yksi

koelehmä (583 Alibi), joka laihtui voimakkaasti erityisesti kokeen alussa. Koelehmän energiatase oli selvästi negatiivinen ja se mobilisoi rasvavarastojaan, mutta plasman BHBA-pitoisuus pysyi kuitenkin alle 1,0 mmol/l eli lehmä ei ollut ketoosissa.

Huhtasen ym. (1998) rajoitetusti käyneeseen säilörehuun perustuvassa tutkimuksessa glukoosin lähtöaineiden lisääminen lisäsi myös plasman glukoosipitoisuutta ja maidon laktoosipitoisuutta. Tällöin energiansaanti ei ole ollut riittävää, ja aminohappoja on saatettu hajottaa glukoosin valmistamiseen sen sijaan, että niitä olisi käytetty maitorauhasen valkuaistuotantoon. Tämän takia aminohappokokeissa on erityisen tärkeää huolehtia koeruokintojen energian riittävydestä (Vanhatalo ym. 1999). Tässä tutkimuksessa riittämätön energiansaanti saattoi olla tärkein tekijä siinä, että metioniinitäydennykselle ei saatu tuotosvastetta.

8 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tämän tutkimuksen perusteella härkäpapu soveltuu hyvin täydennysvalkuaisrehuksi, ja sillä voidaan korvata rypsirouhetta vaikuttamatta maitotuotokseen. Härkäpapu sisältää runsaasti raakavalkuaista ja tärkkelystä, mutta sen pötsihajoavuus on suuri. Härkäpapuvalkuaisessa on myös vain niukasti metioniinia. Härkäpapuruokinnat (HJ, HJM, HR, HRM) lisäsivät hypoteesin vastaisesti kuiva-aineen syöntiä verrattuna rypsiroukintaan, mikä lisäsi lehmien raakavalkuaisen ja tärkkelyksen saantia. Lisääntynyt energia härkäpapuruokinnoissa tehosti todennäköisesti pötsin mikrobivalkuaisen tuotantoa ja lisäsi maidon valkuaispitoisuutta. Härkäpapuseosrehujen suurempi syönti saattoi johtua tasapainoisemmasta aminohappojen ja energian suhteesta, minkä takia rypsirouheella ei saatu yhtä hyvää tuotosvastetta.

Härkäpavun teollinen käsittely paransi hypoteesin mukaisesti valkuaisen hyväksikäyttöä ja tilastollisesti suuntaa antavasti maitotuotosta. Lisääntynyt tuotos oli todennäköisesti seurausta härkäpavun valkuaisen ja tärkkelyksen pötsisulavuuden pienenemisestä ja ohutsuolisulavuuden suurenemisestä. Liian voimakas lämpökäsittely voi kuitenkin vähentää erityisesti eläimelle käyttökelpoisen lysyiinin määrää. Lämpökäsittelyn vaikutukset rehun sulavuuteen ja ravintoaineisiin vaativat jatkotutkimusta, jotta käsittely olisi optimaalinen ohutsuolisulavuuden kannalta, mutta ei tuhoaisi rehun aminohappoja.

Hypoteesin vastaisesti tutkimuksen valkuaisrehuilla saatiin selkeitä muutoksia maidon rasvahappokoostumukseen. Rypsiroukinta lisäsi raakarasvan saantia verrattuna härkäpapuruokintoihin, ja rypsirouhkan pitkäketjuiset kerta- ja monityydyttymättömät rasvahapot lisäsivät niiden määrää myös maitorasvassa. Pitkäketjuisia rasvahappoja kulkeutui rypsiroukinnassa maitorauhaseen mahdollisesti myös kudosasrasvojen hajotuksen seurauksena. Pitkäketjuiset, tyydyttymättömät rasvahapot vähensivät maitorauhasen *de novo* -synteesiä, mikä lisäsi lyhytketjuisten, tyydyttyneiden rasvahappojen pitoisuutta härkäpapuruokinnoissa.

Ruokinnan metioniinitäydennyksellä ei saatu hypoteesin vastaisesti vastetta maidontuotantoon. Raakavalkuaisen saanti oli todennäköisesti riittävä tutkimuksen maitotuotostasolla, eivätkä yksittäiset aminohapot rajoittaneet maitotuotosta ja maidon valkuaispitoisuutta. Energian puute heikensi todennäköisesti valkuaisen hyväksikäyttöä ja

saattoi johtaa jopa aminohappojen hajotukseen energiaksi. Metioniinitäydennyksen vaikutus maitotuotokseen härkäpapuruokinnoissa tarvitsee vielä lisätutkimusta.

KIITOKSET

Haluan esittää lämpimät kiitokseni yliopistonlehtori Anni Halmemies-Beauchet-Filleaulle sekä professori Aila Vanhatalolle ohjauksesta ja neuvoista sekä tutkielmani parissa että opintojen varrella. Iso kiitos avusta ja kannustuksesta myös yliopistonlehtori Seija Jaakkolalle, aurinkoisia eläkepäiviä! Kiitos myös Kasperille ja Nikolle, kun teitte tutkimuksen käytännön toteutuksesta niin hauskaa ja opettavaista.

Kiitos opiskelutovereille, erityisesti Sinille, Lauralle, Paulalle, Eetulle ja Kaisalle, parhaista hetkistä ja koko elämän ystävydestä. Perheelleni kiitos kaikesta tsemppauksesta, teihin voi aina luottaa. Kiitos Viljo-vauvalle pitkästä iltapäivän päiväunista. Suurimman kiitoksen haluan sanoa Erikille, avusta ja tuesta ihan joka päivä.

LÄHTEET

- Aguilera, J. F., Bustos, M. & Molina, E. 1992. The degradability of legume seed meals in the rumen: effect of heat treatment. *Animal Feed Science and Technology* 36: 101–112.
- Ahvenjärvi, S., Vanhatalo, A., Huhtanen, P. & Varvikko, T. 2000. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *British Journal of Nutrition* 83: 67–77.
- Aleksić, D., Grubić, G. & Pavličević, A. 1999. Starch degradability of some concentrate feeds used in dairy cow nutrition. *Acta Veterinaria–Beograd* 49: 269–274.
- Armentano, L., Bertics, S. & Ducharme, G. A. 1997. Response of lactating cows to methionine or methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa hay and heated soybeans. *Journal of Dairy Science* 80: 1194–1199.
- Auboiron, S., Durand, D., Bauchart, D., Robert, J. & Chapman, M. J. 1994. Lipoprotein Metabolism in the Preruminant Calf: Effect of a High Fat Diet Supplemented with L-Methionine. *Journal of Dairy Science* 77: 1870–1881.
- Baer, R., Lentsch, M., Schingoethe, D., Madison-Anderson, R. & Kasperson, K. 1996. Characteristics of milk and reduced fat cheddar cheese from cows fed extruded soybeans and niacin. *Journal of Dairy Science* 79: 1127–1136.
- Baird, G. D. 1981. Ruminant ketosis. *Biochemical Society Transactions* 9: 348–349.
- Bauman, D. & Griinari, M. 2003. Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annual Review of Nutrition* 23: 203–227.
- Baumgard, L., Corl, B., Dwyer, D., Saebø, A. & Bauman, D. 2000. *American Journal of Physiology–Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 278: 179–184.

- Benchaar, C., Vernay, M., Bayourthe, C. & Moncoulon, R. 1992. Incidence of bean (*Vicia faba*) extrusion on starch and nitrogen intestinal flows in lactating cows. *Reproduction Nutrition Development* 32: 265–275.
- Benchaar, C., Chaves, A., Fraser, G., Colombatto, D., McAllister, T. & Beauchemin, K. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology* 145: 209–228.
- Benchaar, C., Cherif, C., Claveau, S., Gervais, R., Girard, J. & Hassanat, F. 2018. Faba bean (*Vicia faba*) inclusion in dairy cow diets: Effect on nutrient digestion, rumen fermentation, nitrogen utilization, methane production, and milk performance. *Journal of Dairy Science* 101: 8916–8928.
- Bequette, B. J. & Backwell, F. R. C. 1997. Amino acid supply and metabolism by the ruminant mammary gland. *Proceedings of the Nutrition Society* 56: 593–605.
- Berthiaume, R., Thivierge, M., Patton, R., Dubreull, P., Stevenson, M., McBride, B. & Lapierre, H. 2006. Effect of ruminally protected methionine on splanchnic metabolism of amino acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89: 1621–1634.
- Bertilsson, J., Gonda, H. L. & Lindberg, J. E. 1994. Effects of level and degradability of rapeseed meal in rations for dairy cows. 1. Animal performance. *Acta Agriculturae Scandinavica* 44: 222–229.
- Boreal 2020. Uusi kotimainen Vire tuo uutta virettä härkäpavun käyttöön. <https://boreal.fi/uusi-kotimainen-vire-tuo-uutta-viretta-harkapavun-kayttoon/#b53e5a3a>. Boreal Kasvinjalostus Oy. Julkaistu 20.3.2020, viitattu 7.6.2020.
- Cant, J. P., DePeters, E. J. & Baldwin, R. L. 1993. Mammary amino acid utilization in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. *Journal of Dairy Science* 76: 762–774.

- Cazzato, E., Tufarelli, V., Ceci, E., Stellacci, A. & Laudadio, V. 2012. Quality, yield and nitrogen fixation of faba bean seeds as affected by sulphur fertilization. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science* 62: 732–738.
- Cerioli, C., Fiorentini, L., Prandini, A. & Piva, G. 1998. Antinutritional factors and nutritive value of different cultivars of pea, chickpea and faba bean. *Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and rapeseed. Wageningen Pers* 93: 43–46.
- Chamberlain, D. & Thomas, P. C. 1983. The effect of supplemental methionine and inorganic sulphate on the ruminal digestion of grass silage in sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34: 440–446.
- Chamberlain, D. & Quig, J. 1987. The effects of the rate of addition of formic acid and sulphuric acid on the ensilage of perennial ryegrass in laboratory silos. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 38: 217–228.
- Chase, L. E., Higgs, R. J. & Van Amburgh, M. E. 2012. Development and evaluation of equations in the Cornell Net Carbohydrate and Protein System to predict nitrogen excretion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95: 2004–2014.
- Cherif, C., Hassanat, F., Claveau, S., Girard, J., Gervais, R. & Benchaar, C. 2018. Faba bean (*Vicia faba*) inclusion in dairy cow diets: Effect on nutrient digestion, rumen fermentation, nitrogen utilization, methane production, and milk performance. *Journal of Dairy Science* 101: 8916–8928.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R. & Doreau, M. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annales de Zootechnie* 49: 181–205.
- Chilliard, Y., Ferlay, A. & Doreau, M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science* 70: 31–48.

- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J. & Doreau, M. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 828–855.
- Choung, J. & Chamberlain, D. 1993. Effects of addition of lactic acid and post-ruminal supplementation with casein on the nutritional value of grass silage for milk production in dairy cows. *Grass and Forage Science* 48: 380–386.
- Collomb, M., Sollberger, H., Butikofer, U., Sieber, R., Stoll, W. & Schaeren, W. 2004. Impact of a basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflower seed on the fatty acid composition of milk fat. *International Dairy Journal* 14: 549–559.
- Costa, N. D., McIntosh, G. H., Snoswell, A. M. 1976. Production of endogenous acetate by the liver in lactating ewes. *Australian Journal of Biological Sciences* 29: 33–42.
- Crépon, K., Marget P., Peyronnet, C., Carrouée, B., Arese, P. & Duc, G. 2010. Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field Crops Research* 115: 329–339.
- Cros, P., Vernay, M. & Moncoulon, R. 1991. In situ evaluation of the ruminal and intestinal degradability of extruded whole horsebeans. *Reproduction Nutrition Development* 31: 249–255.
- Cros, P., Vernay, M., Bayourthe, C. & Moncoulon, R. 1992. Influence of extrusion on ruminal and intestinal disappearance of amino acids horsebean. *Canadian Journal of Animal Science* 72: 89–96.
- Davidson, S. Hopkins, B. A., Odle, J., Brownie, C., Fellner, V. & Whitlow, L. W. 2008. Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation holstein cows. *Journal of Dairy Science* 91: 1552–1559.
- De Visser, H. & de Groot, A. 1980. The influence of the starch and sugar content of concentrates on feed intake, rumen fermentation, production and composition of

milk. Proceedings of the IVth International conference on production disease in farm animals, Munich, s. 41–48.

Dhiman, T., Korevaar, A. & Satter, L. 1997. Particle size of roasted soybeans and the effect on milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80: 1722–1727.

Drackley, J. 1999. Biology of Dairy Cows During the Transition Period: The Final Frontier. *Journal of Dairy Science* 82: 2259–2273.

Dreher, M., Dreher, J. & Berry, J. 1984. Starch digestibility of foods. A critical nutritional perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 20: 47–71.

Duc, G., Marget, P., Esnault, R., Guen, J. & Bastianelli, D. 1999. Genetic variability for feeding value of faba bean seeds (*Vicia faba*): Comparative chemical composition of isogenics involving zero-tannin and zero-vicine genes. *The Journal of Agricultural Science* 133: 185–196.

Duffield, T. F. 2000. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice* 16: 231.

Dvořák, R., Pechová, A., Pavlata, L., Klejdus, B., Kovařík, K., Dostálová, J., Culková, J., Filípek, J., Švajdlenka, E. & Čapková, V. 2006. Reduction in the content of antinutritional substances in faba beans (*Vicia faba*) by different treatments. *Slovenian Veterinary Research* 43: 174–179.

Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T. & Webster, G. 1989. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72: 68–78.

Emmanuel B. & Kennelly J. 1984. Kinetics of methionine and choline and their incorporation into plasma lipids and milk components in lactating goats. *Journal of Dairy Science* 67: 1912–1918.

European Commission. 1998. Commission Directive 98/64/EC. Community methods of analysis for the determination of amino acids, crude oils and fats, and olaquinox

in feeding stuffs and amending directive 71/393/EEC. Official Journal of the European Communities 257, s. 4–23.

Faverdin, P., M'hamed, D. & Vérité, R. 2003. Effects of metabolizable protein on intake and milk production of dairy cows independent of effects on ruminal digestion. *Animal Science* 76: 137–146.

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

Gallant, D., Bouchet, B., Buléon, A. & Perez, S. 1992. Physical Characteristics of Starch Granules and Susceptibility to Enzymatic Degradation. *European Journal of Clinical Nutrition* 46: 3–16.

Giallongo, F., Hristov, A., Oh, J., Frederick, T., Weeks, H., Werner, J., Lapierre, H., Patton, R., Gehman, A. & Parys, C. 2015. Effects of slow-release urea and rumen-protected methionine and histidine on performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 98: 3292–3308.

Givens, D. & Shingfield, K. 2006. Optimising dairy milk fatty acid composition. *Improving the Fat Content of Foods*. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, s. 252–280.

Glasser, F., Ferlay, A. & Chilliard, Y. 2008. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 91: 4687–4703.

Goelema, J., Spreeuwenberg, M., Hof, G., van der Poel, A. & Tamminga, S. 1998. Effect of pressure toasting on the rumen degradability and intestinal digestibility of whole and broken peas, lupins and faba beans and a mixture of these feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 76: 35–50.

Grela, E. & Günter, K. 1995. Fatty acid composition and tocopherol content of some legume seeds. *Animal Feed Science and Technology* 52: 325–331.

- Grummer, R. 1991. Effect of Feed on the Composition of Milk Fat. *Journal of Dairy Science* 74: 3244–3257.
- Gulewicz P., Martinez-Villaluenga C., Kasprowicz-Potocka M. & Frias J. 2014 Non-nutritive compounds in Fabaceae family seeds and the improvement of their nutritional quality by traditional processing—a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 64: 75–89.
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Kairenius, P., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Huhtanen, P., Vanhatalo, A., Givens, D. I. & Shingfield K. J. 2013. Effect of forage conservation method on plasma lipids, mammary lipogenesis, and milk fatty acid composition in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *Journal of Dairy Science* 96: 5267–5289.
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Shingfield, K. J., Simpura, I., Kokkonen, T., Jaakkola, S., Toivonen, V. & Vanhatalo, A. 2017. Effect of incremental amounts of camelina oil on milk fatty acid composition in lactating cows fed diets based on a mixture of grass and red clover silage and concentrates containing camelina expeller. *Journal of Dairy Science* 100: 305–324.
- Harrison, G., Dawson, K. & Hemken, R. 1992. Effects of high iron and sulfate ion concentrations on dry matter digestion and volatile fatty acid production by ruminal microorganisms. *Journal of Animal Science* 70: 1188–1194.
- Heikkilä, T., Toivonen, V. & Huhtanen, P. 1998. Effects of and interactions between the extent of silage fermentation and protein supplementation in lactating dairy cows. *Agricultural and Food Science* 7: 329–343.
- Hofmann, T., Engling, A. C., Henle, T., Martens, S. & Steinhöfel, O. 2020. Quantification of Maillard reaction products in animal feed. *European Food Research and Technology* 246: 253–256.

- Hoover, R. & Zhou, Y. 2003. *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes – A review. *Carbohydrate Polymers*. 54: 401–417.
- Hristov, A. & Broderick A. 1994. *In Vitro* Determination of Ruminant Protein Degradability Using [^{15}N] Ammonia to Correct for Microbial Nitrogen Uptake. *Journal of Animal Science* 72: 1344–1354.
- Hristov, A., Oh, J., Giallongo, F., Frederick, T., Harper, M., Weeks, H., Branco, A., Moate, P., Deighton, M., Williams, S., Kindermann, M. & Duval, S. 2015. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112: 10663–10668.
- Huhtanen, P. 1987. The effects of intraruminal infusions of sucrose and xylose on nitrogen and fibre digestion in the rumen and intestines of cattle receiving diets of grass silage and barley. *Agricultural and Food Science* 59: 405–424.
- Huhtanen, P., Khalili, H. & Näsi, M. 1991. A comparison of untreated and formaldehyde-treated barley distiller's solubles and rapeseed meal as protein supplements in dairy cows given grass silage ad libitum. *Journal of Agricultural Science Finland* 63: 455–463.
- Huhtanen, P. & Heikkilä, T. 1996. Effects of physical treatment of barley and rapeseed meal in dairy cows given grass silage-based diets. *Agricultural and Food Science* 5: 399–412.
- Huhtanen, P., Brotz, P. & Satter, L. D. 1997a. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. *Journal of Animal Science* 75: 1380–1392.
- Huhtanen, P., Miettinen, H. & Toivonen, V. 1997b. Effects of silage fermentation and postruminal casein supplementation in lactating dairy cows. 1. Diet digestion and milk production. *Journal of Science in Food and Agriculture* 74: 450–458.

- Huhtanen, P. 1998. Supply of nutrients and productive responses in dairy cows given diets based on restrictively fermented silage. *Agricultural and Food Science* 7: 219–250.
- Huhtanen, P., Vanhatalo, A. & Varvikko, T. 2002. Effects of abomasal infusions of histidine, glucose and leucine on milk production and plasma metabolites of dairy cows fed grass silage diets. *Journal of Dairy Science* 85: 204–216.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J. & Rinne, M. 2006. Recent developments in forage evaluation with special reference to practical applications. *Agricultural and Food Science* 15: 293–323.
- Huhtanen, P., Rinne, M. & Nousiainen, J. 2007. Evaluation of the factors affecting silage intake of dairy cows; a revision of the relative silage dry matter intake index. *Animal* 1: 758–770.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J. & Rinne, M. 2009. Effects of silage protein degradability and fermentation acids on metabolizable protein concentration: A meta-analysis of dairy cow production experiments. *Journal of Dairy Science* 92: 1633–1642.
- Huhtanen, P., Hetta, M. & Swensson, C. 2011. Evaluation of canola meal as a protein supplement for dairy cows: A review and a meta-analysis. *Canadian Journal of Animal Science* 91: 529–543.
- Huhtanen, P. & Hetta, M. 2012. Comparison of feed intake and milk production responses in continuous and change-over design dairy cow experiments. *Livestock Science* 143: 184–194.
- 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. *Annales Agriculturae Fenniae* 25: 215–230.
- Ingalls, J., McKirdy, J. & Sharma, H. 1980. Nutritive value of faba beans in the diets of young holstein calves and lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 60: 689–698.

- Ipharraguerre, I. & Clark, J. 2005. Varying protein and starch in the diet of dairy cows. II. Effects on performance and nitrogen utilization for milk production. *Journal of Dairy Science* 88: 2556–2570.
- Jaakkola, S., Huhtanen, P. & Hissa, K. 1991. The effect of cell wall degrading enzymes or formic acid on fermentation quality and on digestion of grass silage by cattle. *Grass and Forage Science* 46: 75–87.
- Jaakkola, S., Huhtanen, P. & Vanhatalo, A. 1992. Rumen fermentation and nutrient digestion in cattle fed grass silage-based diets. Symposium on the productivity, conservation and nutritive value of grass-clover mixtures, Saku. 6 s.
- Jaakkola, S. & Huhtanen, P. 1993. The effects of forage preservation method and proportion of concentrate on nitrogen digestion and rumen fermentation in cattle. *Grass and Forage Science* 48: 146–154.
- Jaakkola, S., Saarisalo, E. & Heikkilä, T. 2010. Aerobic stability and fermentation quality of round bale silage treated with inoculants or propionic acid. Proceedings of the 23rd General Meeting of the European Grassland Federation, Kiel, Germany, *Grassland Science in Europe* 15: 503–505.
- Jackson, N. & Forbes, T. J. 1970. The voluntary intake by cattle of four silages differing in dry matter content. *Animal Science* 12: 591–599.
- Jennings, P. & Holmes, W. 1984. Supplementary feeding of dairy cows on continuously stocked pasture. *The Journal of Agricultural Science* 103: 161–170.
- Johnston, D. J., Theodoridou, K., Gordon, A. W., Yan, T., McRoberts, W. C. & Ferris, C. P. 2019. Field bean inclusion in the diet of early-lactation dairy cows: Effects on performance and nutrient utilization. *Journal of Dairy Science* 102: 10887-10902.
- Kairenius, P., Toivonen, V., Ahvenjärvi, S., Vanhatalo, A. & Shingfield, K. J. 2008. Rypsirehujen vaikutus maidon rasvahappokoostumukseen. Suomen Maataloustieteellisen Seuran tiedote nro 23.

- Kaukovirta–Norja, A., Leinonen, A., Mokka, M., Wessberg, N. & Niemi, J. 2015. Tiekartta Suomen proteiiniomavaraisuuden parantamiseksi. <http://jukuri.luke.fi/handle/10024/531664> Helsinki, Suomi. Teknologian tutkimuskeskus VTT. Julkaistu 2015, viitattu 10.6.2020.
- Koivunen, E. 2016. Home-grown grain legumes in poultry diets. Helsingin yliopisto, väitöskirja. 59 s.
- Kokkonen, T., Tuori, M., Leivonen, V. & Syrjälä-Qvist, L. Effect of silage dry matter content and rapeseed meal supplementation on dairy cows. 1. Milk production and feed utilisation. *Animal Feed Science and Technology* 84: 213–228.
- Kostyukovsky, V. & Marounek, M. 1995. Maillard reaction products as a substrate in *in vitro* rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 55: 201–206.
- Kung, L., Windle, M. C. & Walker, N. 2014. The effect of an exogenous protease on the fermentation and nutritive value of high-moisture corn. *Journal of Dairy Science* 97: 1707–1712.
- 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.
- Lanza, M., Fabro, C., Scerra, M., Bella, M., Pagano R., Brogna, D. & Pennisi, P. 2011. Lamb meat quality and intramuscular fatty acid composition as affected by concentrates including different legume seeds. *Italian Journal of Animal Science* 10: 2–18.
- Larsen, M., Lund, P., Weisbjerg, M. & Hvelplund, T. 2009. Digestion site of starch from cereals and legumes in lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 153: 236–248.

- Larsen, M., Lapierre, H. & Kristensen, N. B. 2014. Abomasal protein infusion in postpartum transition dairy cows: effect on performance and mammary metabolism. *Journal of Dairy Science* 97: 5608–5622.
- Lee, C., Giallongo, F., Hristov, A., Lapierre, H., Cassidy, T., Heyler, K., Varga, G. & Parys, C. 2015. Effect of dietary protein level and rumen-protected amino acid supplementation on amino acid utilization for milk protein in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 98: 1885–1902.
- Liu, H., Zhou, D. & Li, K. 2013. Effects of chestnut tannins on performance and antioxidative status of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96: 5901–5907.
- Luke Tilastotietokanta 2020. Viljelykasvien sato.
http://statdb.luke.fi/PXWeb/pxweb/fi/LUKE/LUKE__02%20Maatalous__04%20Tuotanto__14%20Satotilasto. Luonnonvarakeskus Tilastopalvelu.
Viitattu 7.7.2020.
- Luke 2020. Rehutaulukot ja ruokintasuositukset. <http://www.luke.fi/rehutaulukot>.
Luonnonvarakeskus. Viitattu 2.6.2020.
- Manninen, M., Honkavaara, M., Jauhiainen, L., Nykänen, A. & Heikkilä, A. 2011. Effects of grass-red clover silage digestibility and concentrate protein concentration on performance, carcass value, eating quality and economy of finishing Hereford bulls reared in cold conditions. *Agricultural and Food Science* 20: 151–168.
- Martinez, T. F., Moyano, F. J., Diaz, M., Barroso, F. G. & Alarcon, F. J. 2004. Ruminant degradation of tannin-treated legume meals. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84: 1979–1987.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta* 17: 297–304.
- McDonald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J. & Morgan, C. 2011. *Animal Nutrition*. 7th Edition. Harlow, United Kingdom. Pearson Education Limited. 712 s.

- Melicharová, V., Pechová, A., Dvořák, R. & Pavlata, L. 2009. Performance and metabolism of dairy cows fed bean seeds (*Vicia faba*) with different levels of anti-nutritional substances. *Acta Veterinaria Brno* 78: 57–66.
- Miettinen, H. & Huhtanen, P. 1996. Effects of the Ratio of Ruminal Propionate to Butyrate on Milk Yield and Blood Metabolites in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 79: 851–861.
- Miettinen, H. & Huhtanen, P. 1997. Effects of silage fermentation and post-ruminal casein supplementation in lactating dairy cows: 2. Energy metabolites and plasma amino acids. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 74:459–468.
- MMM 2018. Formaldehydin käyttö rehun lisäaineena loppuu, salmonellattomuus turvataan toisin keinoin. <https://mmm.fi/-/formaldehydin-kaytto-rehun-lisaaineena-loppuu-salmonellattomuus-turvataan-toisin-keinoin>.
Maa- ja metsätalousministeriön tiedote 15.2.2018. Viitattu 12.5.2020.
- Moharrery, A., Larsen, M. & Weisbjerg, M. 2014. Starch digestion in the rumen, small intestine, and hind gut of dairy cows – a meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology* 192: 1–14.
- Moisio, T. & Heikonen, M. 1992. AIV-rehun perusteet. Helsinki. Kirjayhtymä Oy. Helsinki. Painettu: Tampere. Tammer-Paino Oy. 170 s.
- Munyaneza, N., Niyukuri, J. & Hachimi, Y. 2017. Milk Urea Nitrogen as an Indicator of Nitrogen Metabolism Efficiency in Dairy Cows: A Review. *Theriogenology Insight – An International Journal of Reproduction in all Animals*. 7: 145.
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition. Washington, DC: The National Academies Press.

- Nordlund, K. & Garrett, E. 1994. Rumenocentesis: A technique for collecting rumen fluid for the diagnosis of subacute rumen acidosis in dairy herds. *The Bovine practitioner* 28: 109–112.
- Nousiainen, J., Rinne, M., Hellämäki, M. & Huhtanen, P. 2003. Prediction of the digestibility of the primary growth of grass silages harvested at different stages of maturity from chemical composition and pepsin-cellulase solubility. *Animal Feed Science and Technology* 103: 97–111.
- Nousiainen, J., Ahvenjärvi, S., Rinne, M., Hellämäki, M. & Huhtanen, P. 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology* 115: 295–311.
- Nyholm, L. 2019. Säilörehujen laatu, satokausi 2019. Artturi-analyysi, Valio Artturi.
- Offner, A., Bach, A. & Sauvant, D. 2003. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology* 106: 81–93.
- Oldham, J.D. 1984. Protein–energy interrelationships in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 67: 1090–1114.
- Overton, T., La Count, D., Cicela, T. & Clark, J. 1996. Evaluation of a ruminally protected methionine product for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79: 631–638.
- Owens, F., Qi, S. & Sapienza, D. 2014. Applied protein nutrition of ruminants – Current status and future directions. *The Professional Animal Scientist* 30: 150–179.
- Palmquist, D., Beaulieu, A. & Barbano, D. 1993. Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition. *Journal of Dairy Science* 76: 1753–1771.
- Palmquist, D., Lock, A., Shingfield, K. & Bauman, D. 2005. Biosynthesis of Conjugated Linoleic Acid in Ruminants and Humans. *Advances in Food and Nutrition Research* 50: 179–217.

- Pitkänen, Olli. 2020. Pötsisuojattu metioniini ja härkäpapuruuhe rypsin korvaajina maidontuotannossa. Helsingin yliopisto, julkaisematon maisterintutkielma. 25 s.
- Pinotti, L., Baldi, A., Politis, I., Rebucci, R., Sangalli, L. & Dell'Orto, V. 2003. Rumen-protected choline administration to transition cows: effects on milk production and vitamin E status. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine* 50: 18–21.
- Pisulewski, P. M., Rulquin, H. & Peyraud, J. L. 1996. Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine. *Journal of Dairy Science* 79: 1781.
- Puhakka, L., Jaakkola, S., Simpura, I., Kokkonen, T. & Vanhatalo, A. 2016. Effects of replacing rapeseed meal with fava bean at 2 concentrate crude protein levels on feed intake, nutrient digestion, and milk production in cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science* 99: 7993–8006.
- Rae, R., Ingalls, J. & McKirdy, J. 1983. Response of dairy cows to formaldehyde-treated canola meal during early lactation. *Canadian Journal of Animal Science* 63: 905–915.
- Rinne, M., Huhtanen, P., Nousiainen, J. 2008. Säilörehun ja koko rehuannoksen syönti-indeksit auttavat lypsylehmien ruokinnan suunnittelussa. *Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote* 23. 8 s.
- Rooke, J., Lee, N. & Armstrong, D. 1987. The effects of intraruminal infusions of urea, casein, glucose syrup and a mixture of casein and glucose syrup on nitrogen digestion in the rumen of cattle receiving grass-silage diets. *British Journal of Nutrition* 57: 89–98.
- Rotger, A., Ferret, A., Calsamiglia, S. & Manteca, X. 2006. In situ degradability of seven plant protein supplements in heifers fed high concentrate diets with different forage to concentrate ratio. *Animal Feed Science and Technology* 125: 73–87.

- Rulquin, H. & Delaby, L. 1994. Lactational responses of dairy cows to graded amounts of rumen-protected methionine (Abstr.). *Journal of Dairy Science* 72: 91.
- Rulquin, H. & Delaby, L. 1997. Effects of the Energy Balance of Dairy Cows on Lactational Responses to Rumen-Protected Methionine. *Journal of Dairy Science* 80: 2513–2522.
- Safaei, K. & Yang, W. 2017. Effects of Grain Processing with Focus on Grinding and Steam-Flaking on Dairy Cow Performance. *Herbivores*, s. 117–131.
- Salo, M. 1965. Determination of carbohydrate fractions in animal foods and faeces. *Acta Agraria Fennica* 105: 1–102.
- Salo, M. & Salmi, M. 1968. Determination of starch by the amyloglucosidase method. *The Journal of Scientific Agricultural Society of Finland* 40: 38–45.
- Schmidt, J., Pipocz, P., Cenkvari, E. & Sipocz, J. 1999. Use of protected methionine (Mepron M85) in cattle. *Acta Veterinaria Hungarica* 47: 409–418.
- Schwab, C. G. 1996. Rumen-protected amino acids for dairy cattle: progress towards determining lysine and methionine requirements. *Animal Feed Science and Technology* 59: 87–101.
- Schwarzenbolz, U., Hofmann, T., Sparmann, N. & Henle, T. 2016. Free Maillard reaction products in milk reflect nutritional intake of glycated proteins and can be used to distinguish “organic” and “conventionally” produced milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 5071–5078.
- Sharma, B.K. & Erdman, R. A. 1988. Abomasal Infusion of Choline and Methionine with or Without 2-Amino-2-Methyl-1-Propanol for Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 71: 2406–2411.
- Sharma, B. K. & Erdman, R. A. 1989. *In Vitro* Degradation of Choline from Selected Foodstuffs and Choline Supplements. *Journal of Dairy Science* 72: 2772–2776.

- Shingfield, K. 2008. Nutritional regulation of milk fatty acid composition. Suomen Maataloustieteellisen Seuran Tiedote Nro 23. Suomen maataloustieteellinen seura. 7 s.
- Shingfield K., Bernard, L., Leroux, C. & Chilliard, Y. 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4: 1140–1166.
- Sjaunja, L. O., Baevre, L., Junkarinen, L., Pedersen, J. & Setälä, J. 1990. A Nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. Teoksessa: P. Gaillon & Y. Chabert (toim). *Performance Recording of Animals: State of the Art*. PUDOC, Wageningen, Alankomaat: EAAP Publication no. 50, s. 156–157.
- Small, J. C. & Gordon, F. 1990. A comparison of the responses by lactating cows given grass silage to changes in the degradability or quantity of protein offered in the supplement. *Animal Production* 50: 391–398.
- Socha, M. T., Schwab, C. G., Putnam, D. E., Whitehouse, N. L., Kierstead, N. A., Garthwaite, B. D. & Ducharme G. A. 1994. Determining methionine requirements of dairy cows during peak lactation by postruminally infusing incremental amounts of methionine. *Journal of Dairy Science* 72: 92–93.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* 160: 61–68.
- Stamm, M. 2015. Effects of different microalgae supplements on fatty acid composition, oxidation stability, milk fat globule size and phospholipid content of bovine milk. *Elintarviketeknologian maisteritutkielma*. Helsingin yliopisto, elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos, EMFOL-ohjelma. 86 s.
- Syrjälä-Qvist, L., Pekkarinen, E. & Setälä, J. 1984. Green Harvested field pea and faba bean, grown alone and with grain, as raw material for silage. *Kotieläntieteen laitoksen tiedote No 4*. Helsingin Yliopisto, Kotieläntieteen laitos, Helsinki. 55 s.

- Tamminga, S., van Vuuren, A., van der Koelen, C., Ketelaar R. & van der Togt, P. 1990. Ruminant behaviour of structural carbohydrates, non-structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 38: 513–526.
- Tamminga, S. & Jansman, A. 1993. *Animal Nutrition*. Wageningen Agricultural University. 30s.
- Teodorowicz, M., Hendriks, W. H., Wichers, H. J. & Savelkoul, H. 2018. Immunomodulation by Processed Animal Feed: The Role of Maillard Reaction Products and Advanced Glycation End-Products (AGEs). *Frontiers in immunology* 9: 2088.
- Thomas, P., Kelly, N. & Chamberlain, D. 1980. Silage. *Proceedings of the Nutrition Society* 39: 257–264.
- Thomas, H. 1984. Effects of drought on growth and competitive ability of perennial ryegrass and white clover. *Journal of Applied Ecology* 21: 591–602.
- Tufarelli, V., Khan, R. & Laudadio, V. 2012. Evaluating the suitability of field beans as a substitute for soybean meal in early-lactating dairy cow: Production and metabolic responses. *Animal Science Journal* 83: 136–140.
- Tuori, M. 1992. Rapeseed meal as a supplementary protein for dairy cows on grass silage-based diet, with the emphasis on the Nordic AAT-PBV feed protein evaluation system. *Agricultural Science in Finland* 1: 367–439.
- Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Toivonen, V. & Varvikko T. 1999. Response of Dairy Cows Fed Grass Silage Diets to Abomasal Infusions of Histidine Alone or in Combinations with Methionine and Lysine. *Journal of Dairy Science* 82: 2674–2685.
- Van der Pol, M., Hristov, A., Zaman, S., Delano, N. & Schneider, C. 2009. Effect of inclusion of peas in dairy cow diets on ruminal fermentation, digestibility, and nitrogen losses. *Animal Feed Science and Technology* 150: 95–105.

- Van Keulen, J. & Young, B. A. 1977. Evaluation of insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science* 44: 282–287.
- Van Rooijen, C., Bosch, G., van der Poel, A. F. B., Wierenga, P. A., Alexander, L. & Hendriks, W. H. 2013. The Maillard reaction and pet food processing: effects on nutritive value and pet health. *Nutrition Research Reviews* 26: 130–148.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583–3597.
- Van Vuuren, A., Huhtanen, P. & Dulphy, J. 1995. Improving the feeding and health value of ensiled forages. *Recent Developments in the Nutrition of Herbivores*. INRA, Pariisi, s. 297–307.
- Varvikko, T., Vanhatalo, A., Jalava, T. & Huhtanen, P. 1999. Lactation and metabolic responses to graded abomasal doses of methionine or lysine in cows fed grass silage diets. *Journal of Dairy Science* 82: 2659–2773.
- Voigt, J. & Piatkowski, B. 1991. Models for estimation of non-ammonia nitrogen supply to the small intestine and to balance nitrogen in the rumen of dairy cows. *Protein Metabolism and Nutrition*, s. 364–366.
- Volpelli, L., Comellini, M., Masoero, F., Moschini, M., Lo Fiego, D. & Scipioni, R. 2010. Faba beans (*Vicia faba*) in dairy cow diet: Effect on milk production and quality. *Italian Journal of Animal Science* 9: 138–144.
- White J., Prell J., James E. K. & Poole P. 2007 Nutrient sharing between symbionts. *Plant Physiology* 144: 604–614.
- Yu, P., Holmes, J., Leury, B. & Egan, A. 1998. Influence of dry roasting on rumen protein degradation characteristics of whole faba bean (*Vicia faba*) in dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 11: 35–42.

- Yu, P., Goelema, J. O. & Tamminga, S. C. 2000. Determination of optimal conditions of pressure toasting on horse beans for dairy feed industry by the DVE/OEB model. *Animal Feed Science and Technology* 86: 165–176.
- Yu, P., Leury, B., Sprague, M. & Egan, A. 2001. Effect of the DVE and OEB value changes of grain legumes (lupin and faba beans) after roasting on the performance of lambs fed a roughage-based diet. *Animal Feed Science and Technology* 94: 89–102.
- Yu, P. 2005. Potential protein degradation balance and total metabolizable protein supply to dairy cows from heat-treated faba beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85: 1268–1274.
- Zagorakis, K., Liamadis, D., Milis, C., Dotas, V. & Dotas, D. 2015. Nutrient digestibility and in situ degradability of alternatives to soybean meal protein sources for sheep. *Small Ruminant Research* 124: 38–44.
- Zeisel, S. H. & Canty, D. J. 1993. Choline phospholipids: molecular mechanisms for human diseases: a meeting report. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 4: 258–263.