

Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

KUITUPITOISTEN UUSREHUJEN POTENTIAALI MÄREHTIJÖIDEN RUOKINNASSA

Outi Savonen

LISENSIAATINTUTKIELMA

Helsinki 2020

Helsinki 2020

TIIVISTELMÄ

Tämän lisensiaatintyössä tutkittiin kuitupitoisten uusrehujen eli biojalostamoprosessissa muodostuneen säilörehun kiintojakeen (kiintojake) sekä mikrokiteisen selluloosan (MCC) vaikutuksia lypsylehmien rehun syöntiin, sulavuuteen, pötsifermentaatioon ja maitotuotukseen. Kiintojake korvasi karkearehuannoksessa käsittelemätöntä nurmisäilörehua ja MCC dieetissä ohraa väkirehuna.

Työn taustalla oli tarve tutkia märehijöillä ihmisravinnoksi kelpaamattomia rehumateriaaleja. Ruoantuotannon tarve tulee lisääntymään merkittävästi maapallon väestönkasvun seurauksena. Kuitupitoisten uusrehujen käyttö märehijöiden rehuna olisi myös osa kestävästä ruokajärjestelmästä sillä biojalostamoprosessissa muodostuneen kiintojakeen rehukäyttö tehostaisi luonnonvarojen hyödyntämistä ja puupohjaisten materiaalien käyttö vapauttaisi peltoalaa ihmisravinnon tuottamiseen. Nurmenviljelyn tehostaminen Suomessa olisi vastaus moniin ilmastomuutoksen aiheuttamiin haasteisiin. Lisäksi nurmesta erotettujen biomateriaalien jalostus lisäisi nurmesta saatavaa kokonaisuhyötystä.

Ensimmäisessä osakokeessa lypsylehmien ruokintakoetta varten nurmisäilörehua fraktioitiin tilamittakaavan kaksoisruuvipuristimella. Nestejakeen erottaminen lisäsi kiintojakeen kuiva-aineen ja neutraalidetergenttikuidun (NDF) pitoisuuksia ja laski sen raakavalkuaispitoisuutta käsittelemättömään säilörehuun verrattuna. Ruokintakokeessa kiintojake korvasi karkearehuannoksesta 0, 0,25 tai 0,50. Lehmät pystyivät lisäämään syöntiään kiintojakeen osuuden lisääntyessä 0,25:n, mutta kiintojakeen osuuden ollessa puolet karkearehuannoksesta lehmät eivät enää lisänneet syöntiä. Raakavalkuaisen sulavuus laski lineaarisesti ja NDF:n sulavuus lisääntyi suuntaa antavasti dieetin kuitupitoisuuden lisääntyessä. Pötsin pH tai ammoniakkipitoisuus eivät muuttuneet, kun säilörehua korvattiin kiintojakeella. Myöskään pötsin haihtuvien rasvahappojen kokonaismäärässä ei ollut eroa, mutta etikkahapon osuus kasvoi kiintojakeen lisäyksen myötä. Dieetin lisääntyneen kuitupitoisuuden seurauksena muuntokelpoisen energian saanti väheni käyräviivaisesti ja energiakorjattu maitotuotos (ekm) laski suuntaa antavasti. Todennäköisesti erotusprosessi muokkasi rehun mekaanisesti edistäen sen pötsisulatusta. Tämä saattoi selittää syönnin lisääntymisen ja estää ekm-tuotoksen laskun kiintojakeen osuuden ollessa 0,25.

Toisessa osakokeessa tutkittiin havupuusellusta Aalto-yliopiston kehittämällä menetelmällä valmistetun mikrokiteisen selluloosan (AaltoCell™) vaikutuksia lypsylehmillä. Lypsylehmien

ruokintakokeessa MCC korvasi väkirehuna käytettyä ohraa ja sen osuus dieetin kuiva-aineesta oli 0, 0,01 tai 0,1. Mikrokiteisen selluloosan rakenne on hyvin tiivis sillä selluloosaketjujen muodostamaa kiderakennetta lujittavat lukuisat molekyylisen sisäiset ja niiden väliset vetysidokset. Kuiva-aineen syötiin MCC:n osuuden lisääntyminen ei vaikuttanut mutta NDF:n sulavuus parani dieetin kuitupitoisuuden lisääntyessä. Pötsifermentaatioon MCC ei vaikuttanut. Huolimatta ME:n saannin lisääntymisestä ekm-tuotos väheni lineaarisesti MCC:n osuuden lisääntyessä. Syytä tähän tuotoksen laskuun ei kokeessa käytetyillä menetelmillä pystytty selvittämään. Kuidun sulavuuden lisääntymisen selittää oletettavasti se, että MCC:n kuidun sulavuus oli parempi kuin rehuannoksen muiden rehujen kuidun. MCC:n pienen partikkelikoon aiheuttama suuri mikrobisulatuksen käytettävissä oleva pinta-ala edistää sen tehokasta pötsisulatusta.

Lehmät pystyivät käyttämään hyväkseen tutkittuja kuitupitoisia uusrehuja. Kuidun sulavuuden paraneminen kompensoi dieetin kuitupitoisuuden nousua molemmissa osakokeissa ja maitotuotos laski vain vähän. Kiintojakeen matala raakavalkuaispitoisuus tehosti typen hyväksikäyttöä maidontuotannossa. Myös MCC:n käyttäminen voisi lisätä typen hyväksikäytön tehokkuutta, koska se ei sisällä lainkaan typpeä. Kuitupitoisten uusrehujen käyttö märehitijöiden ruokinnassa tehostaisi luonnonvarojen hyödyntämistä. Nurmenviljely ja nurmesta saatavien biomateriaalien hyväksikäyttö tehostuisivat, jos nurmen fraktiointi yleistyisi. Kuitupitoisten uusrehujen käyttö säästäisi peltoalaa ihmisravinnoksi sopivien kasvien tuottamiseen.

Avainsanat: Biojalostamo, säilörehun fraktiointi, MCC, AaltoCell™, kuitu, märehittäjä, maidontuotanto

ABSTRACT

NOVEL FIBROUS FEEDS FOR RUMINANTS

The objective of this licentiate thesis was to study the effects of novel fibrous feeds on feed intake, digestibility, rumen fermentation and milk production of lactating dairy cows. The novel feeds used in the milk production trials were silage solid fraction originated from a green biorefinery process (solid fraction) and microcrystalline cellulose (MCC) from coniferous trees. Solid fraction replaced unprocessed grass silage whereas MCC replaced barley in the diet as concentrate.

The idea behind this thesis was a need to examine ruminant feeds unsuitable for human food. The need of more efficient food production will increase significantly due to the global population growth. Novel feeds for ruminants could form a part of a sustainable food system because the use of grass solid fraction would intensify the use of natural resources. The use of wood-based products would release arable land for producing human food. Enhancing the efficiency of grassland management in Finland might help to answer many problems caused by climate change. Furthermore, the processing of grass based biomaterials would contribute to the overall benefits from grasslands.

In the first experiment (Exp. I), grass silage was fractionated using a farm scale twin-screw press. Due to the separation of liquid fraction the concentration of both dry matter and neutral detergent fibre (NDF) increased whereas the crude protein concentration was reduced in the solid fraction compared to the unprocessed silage. In the feeding trial, solid fraction replaced 0, 0.25 or 0.5 of the portion of forage. The cows were able to increase their feed intake when the proportion of solid fraction increased to 0.25. However, at the point where the proportion of solid fraction reached 0.5 the cows could not increase feed intake further. The digestibility of crude protein decreased linearly whereas the digestibility of NDF tended to increase with the increase in the NDF content of the diet. The pH or the content of ammonia in the rumen fluid did not change when silage was replaced with the solid fraction. There was also no difference in the amount of total volatile fatty acids in the rumen fluid but the proportion of acetic acid increased with the increased proportion of solid fraction. Due to the increase in NDF content, the intake of metabolizable energy decreased quadratically and the amount of energy corrected milk tended to decrease. The separation process probably mechanically crushed the plant structure thus enhancing its rumen

digestibility. This might explain the increase in feed intake and prevent the energy corrected milk production from declining when the portion of solid fraction was 0.25.

In the second experiment (Exp. II), the effects of microcrystalline cellulose manufactured from coniferous wood pulp using a method developed at Aalto university (AaltoCell™) was studied on dairy cows. In the feeding trial on lactating dairy cows MCC replaced barley in the concentrate. The proportion of MCC in diet dry matter was 0, 0.01 or 0.1. Microcrystalline cellulose has a very tight structure because the crystalline regions of the cellulose chains are strengthened by numerous inter- and intramolecular hydrogen bonds. The increase in MCC concentration did not affect dry matter intake. However, the digestibility of NDF improved with the increase in NDF content of the diet. Despite of increased intake of metabolizable energy, energy corrected milk production decreased linearly with the increase of MCC. The methods used in this study could not reveal the cause of the reduction in milk production. The increase in fibre digestibility can probably be explained by the better digestibility of MCC fibre compared to other fibres in the diet. Due to the small particle size of MCC, there is more surface area for microbial fermentation which may enhance the rumen digestibility.

The cows were able to use the novel fibrous feeds examined in both experiments. The improvements in fibre digestibility compensated the increased fibre concentration in both experiments and there was only a minor reduction in milk production. The low concentration of crude protein in solid fraction improved the nitrogen use efficiency in milk production. The usage of MCC might also increase nitrogen use efficiency because it does not contain any nitrogen. The use of novel fibrous feeds in ruminant nutrition would help to enhance the use of natural resources and release arable land for human food production Grass cultivation as well as the usage of grass based biomaterials would be more efficient if the fractionation of grass would be more widely used.

Keywords: Biorefinery, fractionation, silage, MCC, AaltoCell™, fibre, ruminant, milk production

KIITOKSET

Haluan kiittää lämpimästi ohjaajiani prof. Marketta Rinnettä ja MMT Kaisa Kuoppalaa saamastani ohjauksesta ja tuesta tämän työn kuluessa. Heidän neuvonsa ja apunsa ovat olleet korvaamattomia ja kantaneet etenkin silloin kun työn eteneminen on ollut hankalaa. Olen voinut luottaa Marketan apuun lähes vuokauden aikaan tai viikonpäivään katsomatta, mistä olen nöyrän kiitollinen. Kiitokset myös MMT Seija Jaakkolalle ohjauksesta ja neuvoista sekä pitämisestä ajan tasalla tiedekunnan vaatimuksista. Kiitokset myös professori Aila Vanhatalolle ohjauksesta työn kuluessa sekä yhteenvedon kommentoinnista.

Haluan myös lämpimästi kiittää Luken tutkijoita D.Sc. Marcia Francoa, MMM Piia Kaireniusta, MMT Päivi Mäntysaarta ja M.Sc. Tomasz Stefanskia, jotka ovat olleet mukana sekä kokeisiin liittyneissä käytännön vaiheissa että tulosten analysoinnissa ja julkaisujen kirjoittamisessa. Myös heidän apunsa ja neuvonsa olen ottanut kiitollisena vastaan. Vaikka olen ollut Jokioisilla osana Luken työyhteisöä vain lyhyitä aikoja, se on tarjonnut minulle lisensointityöhöni liittyvän tiedon ja ohjauksen lisäksi myös avaria näkökulmia kotieläintuotantoon ja sen parissa tehtävään tutkimukseen.

Haluan myös kiittää Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoulua yhteistyöstä ruokintakokeessa, jossa mielenkiinnon kohteena oli mikrokiteinen selluloosa. Kiitokset DI Juhana Pakkasmaalle asiantuntijuudesta puuhun ja sen prosessointiin liittyen. Lukessa tutkimuksen perustyö tehdään tinkimättömästi ja huolella pelloilla ja navetassa. Haluankin kiittää Luke Jokioisten tutkimustilan ja navetan työntekijöitä työpanoksesta niin karjan hyvässä hoidossa kuin kokeiden käytännön suorittamisessa. Kiitokset myös Luke Jokioisten laboratoriohenkilökunnalle näytteiden analysoinnista ja monista selventävistä neuvoista.

Olen hyvin kiitollinen Agronomiliiton yhteydessä toimivalle Oiva Kuusiston Säätiölle, Raisio Oyj:n tutkimussäätiölle sekä August Johannes ja Aino Tiuran Säätiölle saamastani taloudellisesta tuesta, joka on mahdollistanut jatko-opintoni.

Lopuksi haluan lämpimästi kiittää perhettäni kaikesta siitä korvaamattoman arvokkaasta tuesta ja avusta, jota olen niin monin tavoin näiden vuosien aikana saanut.

SISÄLLYS

1. JOHDANTO	11
2. TAUSTAA	13
2.1 KUIDUN RAKENNE JA OMINAISUUDET	13
2.1.1 SELLULOOSA.....	13
2.1.2 MIKROKITEINEN SELLULOOSA	15
2.2 MÄREHTIJÖIDEN KUIDUN SULATUS	16
2.3 KUITUPITOISET UUSREHUT	19
2.3.1 MEKAANISESTI KÄSITELLYT NURMIREHUT	19
2.3.2 PUUPOHJAISET MATERIAALIT	23
3. TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA HYPOTEESEIT	25
4. AINEISTO JA MENETELMÄT	26
4.1 KOEREHUJEN TUOTTAMINEN	26
4.1.1 PERUSREHUT.....	26
4.1.2. SÄILÖREHUN KIINTOJAE	27
4.1.3. MCC.....	28
4.2. ELÄIMET, RUOKINTA JA KOEKÄSITTELYT	29
4.3 MITTAUKSET JA LASKELMAT	30
4.4 TILASTOLLISET MENETELMÄT	31
5. TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU	32
5.1. KOEREHUT	32
5.2 SYÖNTI	35
5.3 PÖTSIFERMENTAATIO	39
5.4 SULAVUUS	44
5.5 MAITOTUOTOS	51
5.7 TUOTANNON TEHOKKUUS	57
5.7.1 KUIVA-AINEEN JA ENERGIAN KÄYTÖN TEHOKKUUS.....	57
5.7.2. TYPEN HYVÄKSIKÄYTÖN TEHOKKUUS	59
6. JOHTOPÄÄTÖKSET	60
7. JATKOTUTKIMUSAIHEITA	61
8. KIRJALLISUUS	62

JULKAISUT

Tämä lisensiaatintutkielma perustuu seuraaviin julkaisuihin, joiden roomalaisiin numeroihin tekstissä viitataan:

- I Savonen, O., Franco, M., Stefanski, T., Mäntysaari, P., Kuoppala, K. & Rinne, M. 2020. Grass silage pulp as a dietary component for high-yielding dairy cows. *Animal* 14, 1472-1480. doi:10.1017/S1751731119002970

- II Savonen, O., Kairenius, P., Mäntysaari, P., Stefanski, T., Kuoppala, K., Pakkasmaa, J. & Rinne, M. 2020. The effects of microcrystalline cellulose as a dietary component for lactating dairy cows. *Agricultural and Food Science* 29, 198-209. doi:10.23986/afsci.85089

LYHENTEET

D-arvo	sulavan orgaanisen aineen pitoisuus kuiva-aineessa
ekm	energiakorjattu maito
iNDF	sulamaton kuitu
k_d	sulatusnopeus
k_p	virtausnopeus
ka	kuiva-aine
NDF	neutraalidetergenttikuitu
MCC	mikrokiteinen selluloosa
ME	muuntokelpoinen energia
OIV	ohutsuolesta imeytyvä valkuainen
PVT	pötsin valkuaistase
rv	raakavalkuainen
SEM	keskiarvon keskivirhe
VFA	haihtuvat rasvahapot

1. JOHDANTO

Märehtijöihin perustuva ruoantuotanto on monien haasteiden edessä tultaessa 2020-luvulle. Ilmastonmuutoksen eteneminen pienentää ruoantuotantoon käytettävissä olevaa pinta-alaa. Sääolosuhteiden muuttuminen kuten sademäärän ja toisaalta kuivuuden lisääntyminen ja talvien lämpeneminen aiheuttaa haasteita eri kasvilajien viljelyyn niin Suomessa kuin muualla maailmassa. Lisäksi maapallon väkiluvun nopea kasvu on haaste ruoantuotannon riittävyydelle tulevaisuudessa. Maapallon väkiluku oli vuonna 2019 noin 7,7 mrd ja vuonna 2030 sen ennustetaan olevan jo 8,5 mrd (YK 2019). Ruoantuotannon tarve tulee kasvamaan merkittävästi tämän hetkiseen tuotantoon verrattuna. Lisäksi kehittyvissä maissa keskiluokan kasvu ja sen tulotason nousu ovat lisänneet ruoan ja erityisesti kotieläintuotteiden kysyntää.

Koska viljelymaata ei juurikaan voida raivata lisää, on nykyistä tuotantoa pyrittävä tehostamaan kestävästi. Kestävä rehuntuotanto ottaa huomioon ympäristö-, talous- sekä yhteiskunnalliset vaikutukset (Makkar ja Ankers 2014). Pyrkimys ihmisravinnoksi kelpaavien tuotteiden käytön vähentämiseen kotieläinten rehuna on yhteydessä kestävään rehuntuotantoon. Jotta ruoantuotantoa voidaan lisätä väestönkasvun tarpeisiin, tarvitaan kestävää rehuntuotantoa sekä uusien rehuraaka-aineiden käyttöönottoa (Halmemies-Beauchet-Filleau ym. 2018).

Kilpailu luonnonvarojen käytöstä ruoan ja energian tuotannon sekä tuotantoeläinten rehustuksen välillä on johtanut nurmibiojalostamokonseptin kehittymiseen, minkä seurauksena myös nurmen hyödyntäminen ratkaisuna ruoantuotannon haasteisiin on lisääntynyt (Hermansen ym. 2017) sekä kestävään rehuntuotantoon. Biopohjaiset tuotteet voivat kilpailla petrokemian teollisuuden perustuvien tuotteiden kanssa vain, jos ne hyödynnetään optimaalisesti ja luodaan niille lisäarvoa tuovia tuotantoketjuja (Kamm ja Kamm 2004). Nurmi on koostumukseltaan monipuolinen ja sen sisältämä kuitu on suhteellisen helposti hydrolysoitavaa. Nurmi sitoo tehokkaasti auringon säteilyenergiaa kemialliseen muotoon ja sen säilöminen säilörehuna mahdollistaa ympärivuotisen käytön ja laadun ennustettavuuden (Wilkinson ja Rinne 2018). Ilmastonmuutoksen ennustetut seuraamukset kuten kasvukauden piteneminen, kasvun voimistuminen sekä maan kasvukunnon ja hiilensidonnin korostuminen tulevaisuudessa vahvistavat nurmien asemaa

peltoviljelyssä (Luke 2019a). Suomen peltopinta-alasta noin 30 % on nurmella. Se on yleisin pellonkäyttömuoto ja nurmen merkitys maidon- ja naudanlihantuotannossa on keskeinen.

Nurmibiojalostamossa käsiteltyä nurmea voidaan käyttää sekä energian tuotannossa että monien muiden tuotantoprosessien raaka-aineiden lähteenä (Xiu ja Shahbazi 2015). Biojalostamossa keskeisin prosessi on solunsisällysaineiden ja kuitupitoisen solunseinäaineksen mekaaninen erottaminen (McEniry ja O`Kiely 2013, Franco ym. 2019). Tätä prosessia on tutkittu jo 1950-luvulta lähtien (Raymond ja Harris 1957). Muodostuneesta nestejakeesta voidaan erottaa mm. aminohappoja ja sokereita edelleen prosessoitavaksi (McEniry ja O`Kiely 2013). Nestejakeen käytöstä yksimahaisten rehuna on saatu hyviä tuloksia (Adler ym. 2018a, Hulkkonen 2019). Sillä voitaisiin myös korvata tuontivalkuaisista, mikä lisäisi valkuaisomavaraisuutta ja parantaisi ruokaturvaa. Nestejakeen käyttö lihasikojen energianlähteenä vähentäisi viljan käyttöä eläinten rehuna. Lisäksi nurmen sisällyttäminen sikatilojen yksipuoliseen viljelykiertoon parantaisi maan kasvukuntoa ja sen hiilensidontakykyä.

Biojalostamoprosessissa muodostunutta kuitupitoista kiintojaetta voidaan käyttää märehtijöiden rehuna tai mm. synteettisten biopolttoaineiden raaka-aineena (Pijman ym. 2018, Damborg ym. 2019, McEniry ja O`Kiely 2014, Xiu ja Shahbazi 2015). Säilörehun fraktioinnin ei ole todettu laskevan maitotuotosta dieetin kuitupitoisuuden lisääntymisestä huolimatta (Damborg ym. 2019, Pijman ym. 2018). Biojalostamoprosessien seurauksena nurmesta saatava kokonaishyöty lisääntyy ja biojalostamotoiminta on kilpailukykyistä, kun sekä kiinto- että nestejake hyödynnetään eli kaikille komponenteille löydetään lisäarvokäyttöä.

Märehtijöiden kyky käyttää kasvien soluseinäaines energianlähteenään mahdollistaa rehujen materiaalipohjan laajentamisen. Selluloosa on kasvukunnan yleisin biopolymeeri ja sen rakenne on kaikkialla kasvukunnassa samanlainen, myös puuaineksessa. Suomen pinta-alasta 76 % on metsää ja Suomi on maailman kärkimaita niin kemiallisen kuin mekaanisenkin metsäteollisuuden toimialoilla. Näiden prosessien sivutuotteita sekä muita puupohjaisia materiaaleja märehtijöiden rehuna on tutkittu Suomessa pitkään (Saarinen ym. 1959, Huhtanen 1984, Näsi 1984, Tesfa ym. 1992, Rinne ym. 2016, Kairenius ym. 2020). Myös muualla maailmassa puun ja sen jalostusteollisuuden sivutuotteiden rehukäyttöä märehtijöillä on tutkittu jo vuosikymmeniä (Millett ym. 1973, Butterbaugh ja Johnson 1974, Zelenak ym. 1979, Zinn ym. 1993). Huolimatta panostuksesta puupohjaisen materiaalin tutkimiseen osana märehtijöiden rehustusta, se ei ole johtanut käytännön sovellutuksiin.

Kiinnostus puupohjaisen mikrokiteisen selluloosan (MCC) rehukäyttöä kohtaan on lisääntynyt. Sillä on havaittu olevan positiivisia vaikutuksia ruoansulatukseen ja ruoansulatuskanavan toimintaan sekä ihmisellä että yksimahaisilla (Nsor-Atindana ym. 2017). Se on koostumukseltaan lähes kokonaan selluloosaa mutta sen rakenne on hyvin tiivis, vetysidosten lujittama kiderakenne. Sillä on monia ominaisuuksia, jotka mahdollistavat sen lukuisat käyttökohteet (Habibi ym. 2010). Aalto-yliopisto kehitti ja patentoi taloudellisen ja ympäristöystävällisen MCC:n tuotantoprosessin, jossa raaka-aineena on massanvalmistuslinjasta otettu havupuusellu (Dahl ym. 2011a, 2011b).

Säilörehun kiintojakeen ja MCC:n kuitufraktiot eroavat toisistaan partikkelikokonsa ja hienorakenteensa perusteella. Märehtijöiden tehokkaan kuidun hyväksikäyttökyvyn ansiosta näillä kummallakin on potentiaalia märehtijöiden ruokinnassa. Kotimaisia tutkimuksia fraktioidun nurmirehun vaikutuksista lypsylehmien ruokinnassa ei ole eikä MCC:n käyttöä märehtijöiden rehukomponenttina ole kirjoittajan tiedon mukaan tutkittu aikaisemmin. Kuitupitoisten uusrehujen tuotanto ja rehukäyttö edistäisivät Suomen biotalousstrategisten päämäärien mukaista biomassojen käytettävyyden ja kestävyyslisäämistä (Sitra 2014).

Tämän lisensointityön tarkoitus oli tutkia kuitupitoisten uusrehujen eli biojalostamoprosessissa tuotetun säilörehun kiintojakeen ja MCC:n vaikutuksia lypsylehmien rehukomponentteina.

2.TAUSTAA

2.1 KUIDUN RAKENNE JA OMINAISUUDET

2.1.1 SELLULOOSA

Selluloosa on luonnossa kaikkein yleisimmin esiintyvä hiilihydraatti. Se käsittää tyypillisesti 20 - 40 % kasvien kuiva-aineesta. Nurmikasvien selluloosapitoisuus vaihtelee 20 - 30 % välillä ja hemiselluloosapitoisuus on 10 - 20 % (Huhtanen ym. 2006a). Ruohon ligniinipitoisuus on noin 5-10 % (Van Soest 1994) ja muiden ainesosien kuten valkuaisen, vesiliukoisten hiilihydraattien, lipidien ja kivennäis- ja hivenaineiden osuus on yleensä alle 40 %. Karkearehuista eristetty hemiselluloosa koostuu pääasiassa beta-glukaaneista, jotka

ovat vain nurmikasveissa esiintyviä polysakkarideja. Pentosaanit muodostavat 15 % nurmikasvien kuiva-aineesta (ka) ja merkittävimmät näistä ovat ksyloosi ja arabinoosi. Myös melkein kaikki kasvin kutiini kuuluu pentosaaneihin (Van Soest 1994).

Puun selluloosapitoisuus vaihtelee 40 - 50 %:n, hemiselluloosapitoisuus 20 - 35 %:n ja ligniinipitoisuus 20 - 30 %:n välillä ka:sta. Muiden ainesosien kuten valkuaisen ja kivennäis- ja hivenaineiden osuus on alle 10 %. Havu- ja lehtipuissa pääkomponenttien suhteet vaihtelevat. Havupuut sisältävät enemmän ligniiniä ja vähemmän hemiselluloosaa kuin lehtipuut (Sjöström 1993). Selluloosan kemiallinen koostumus on luultavasti samanlainen riippumatta sen lähteestä (Choct 1997). Toisin kuin selluloosa, hemiselluloosa ei ole homogeeninen ainesosa vaan ryhmä erilaisia polysakkarideja (Sjöström 1993). Glukomannaanit ja galaktoglukomannaanit ovat havupuiden pääasialliset polysakkaridit ja koivussa vallitseva polysakkaridi on ksylaani (Willför ym. 2005).

Hemiselluloosa ja ligniini ovat liittyneinä selluloosaan kasvin soluseinässä. Ligniinin suhde selluloosaan on lauhkean ilmastovyöhykkeen ruohokasveissa 8 - 20 % mutta puussa 30 - 60 % (Van Soest 1994). Ruohon ja puumateriaalien sulavuus ovat suhteessa kasvin ligniinipitoisuuteen. Tämän vuoksi nautojen kyky sulattaa puuperäistä selluloosaa on hyvin rajoittunut verrattuna lauhkean ilmastovyöhykkeen ruohon sulattamiseen (Van Soest 1994).

Myös selluloosan sisäisillä ominaisuuksilla on vaikutusta sen ruokinnalliseen arvoon (Van Soest 1994). Selluloosa on soluseinissä makrofibrilleistä koostuvina tiiviinä rakenteina. Makrofibrillit muodostuvat mikrofibrillikimpuista, jotka puolestaan rakentuvat perus- eli elementaarifibrilleistä. Nämä muodostuvat polymeroituneista β -D-glukoosimolekyyleistä, joissa glukoosimonomeerit ovat liittyneet toisiinsa 1-4-glukosidisiin sidoksia. Sellobioosiyksikössä kaksi glukoosimolekyyliä on kiertynyt toisiinsa nähden 180° , jolloin polymeeriketju voi muodostaa lineaarisen rakenteen. Jokaisessa glukoosiyksikössä on kolme vapaata hydroksyyli ryhmää, joilla on voimakas taipumus muodostaa vetysidoksia sekä samassa että eri selluloosaketjussa olevien glukoosiyksiköiden välille. Nämä vetysidokset tekevät rakenteesta hyvin lujan ja tiiviin (Vanhatalo 2017).

Selluloosamolekyylikerrosten välillä on myös heikompiä hydrofobisia sidoksia (Koch 2006). Myös ligniini sitoo selluloosaketjuja puuaineksessa (Nsor-Atindana ym. 2017). Tiiviin rakenteensa vuoksi selluloosa on hyvin vaikeasti hajoava (Matthews ym. 2006). Selluloosa ei liukene veteen eikä vesiliukoisiin emäksiin (Choct 1997), mutta sitä voidaan kuitenkin hydrolysoida happo-, emäs- tai entsyymiprosessilla tai hydrotermisesti (Fan ym. 1987).

Hydrolyysin seurauksena selluloosan polymeroitumisaste pienenee (Fengel ja Wegener 1989).

2.1.2 MIKROKITEINEN SELLULOOSA

Selluloosan rakenteessa on järjestäytyneitä ja järjestäytymättömiä alueita. Molekyylin sisäiset vetysidokset aiheuttavat kidemäisen, tiiviin ja järjestäytyneen rakenteen muodostumisen. Amorfisen alueen rakenne on avoimempi, joten se absorboi vettä ja kemikaaleja tehden tästä osasta selluloosaa alttiin biologiselle, kemialliselle ja mekaaniselle hajotukselle (Vanhatalo 2017). Vasta viime aikoina on huomattu, että happohydrolyysin seurauksena selluloosakuidut muodostavat köysimäisiä, kiteisiä rakenteita eli nanokristalleja (Habibi ym. 2010). Kristallisten jaksojen eristäminen kemiallisin, mekaanisin tai biologisin keinoin tuottaa selluloosakiteitä, jotka ovat erilaisia muodoltaan ja kooltaan. Näitä ovat nanokristallien lisäksi toiminnalliset ainesosat kuten mikrofibrilloitu selluloosa ja mikrokiteinen selluloosa (MCC) (Nsor-Atindana ym. 2017).

FAO:n (1996) määritelmän mukaan MCC on puhdistettua, osaksi depolymerisoitua selluloosaa, joka on valmistettu kasvimateriaalin α -selluloosasta. Se on miltei valkoista, hajutonta jauhetta, jolla on Euroopan ruokaturvallisuusviraston E-koodi E460. MCC:n polymerisaatioaste (DP) eli glukoosiyksiköiden määrä selluloosamolekyylissä on yleensä alle 400 ja vain 10 % partikkeleista ovat kooltaan isompia kuin 5 μm (FAO 1996). Luonnollisen puun polymerisaatioaste on noin 10 000 ja kemiallisen paperimassan 500 - 2000 (Sjöström 1993, Krässig ym. 2003, Koch 2006).

Mikrokiteisen selluloosan valmistusta on luultavasti raportoitu tieteellisesti ensi kerran vuonna 1875 (Girard 1875). Selluloosakuitujen hajoaminen korkealaatuisesta puusellusta suolahapolla oli MCC:n kaupallistamisen alkusysäys (Battista 1950) ja virallisesti MCC:n valmistus keksittiin vuonna 1955 (FMC 2014). Uutta kuitutuotetta sovellettiin monilla eri aloilla kuten ruoka- ja lääketieteellisyydessä (Vanhatalo 2017). Selluloosan pääasialliset lähteet MCC:n valmistusta varten luokitellaan puupohjaisiin ja ei-puupohjaisiin lähteisiin mukaan lukien havu- ja lehtipuu sekä lignoselluloottiset materiaalit, erityisesti maatalouden sivutuotteet (Nsor-Atindana ym. 2017). Puuaineksessa amorfinen selluloosa ja hemiselluloosa ympäröivät kiteistä osaa, jota lisäksi ligniini peittää ja vahvistaa (Takigawa 1987). Tämän vuoksi MCC:n yleisin valmistusprosessi on happohydrolyysi (Habibi ym.

2010). Aalto-yliopisto on kehittänyt ja patentoinut taloudellisen ja ympäristöystävällisen keinon tuottaa MCC:tä (Aalto Cell™) havupuusellusta (Vanhatalo ja Dahl 2014).

Mikrokiteinen selluloosa on myrkytöntä, fysiologisesti reaktiokyvytöntä, raaka-aineeltaan uusiutuvaa ja biohajoavaa. Nämä ominaisuudet ovat mahdollistaneet sen käytön monilla eri teollisuudenaloilla kuten elintarvike-, kosmetiikka-, lääke- ja muoviteollisuudessa (Nsor-Atindana ym. 2017). MCC:n fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet ovat herättäneet runsaasti kiinnostusta sen mahdolliseen käyttöön tuotantoeläinten rehukomponenttina (Habibi ym. 2010). MCC:n vaikutuksia yksimahaisten terveyteen sekä syönnin ja tuotoksen lisääntymiseen on tutkittu jonkin verran (Modesto ym. 2009, Wu ym. 2016). Kirjoittajan tiedossa ei ole yhtään julkaistua raporttia MCC:n käytöstä märehitijöiden rehukomponenttina.

2.2 MÄREHTIJÖIDEN KUIDUN SULATUS

Märehitijät pystyvät hyödyntämään tehokkaasti rehun sulavan energian ns. valikoivan viipymisen avulla (Huhtanen ym. 2006b). Sen mukaan kuidun sulatus pötsissä perustuu suurten ja aktiivisesti fermentoituvien partikkelien pidättymiseen pötsissä ja pienten, tiheiden jo sulatettujen partikkelien erottumiseen nestefaasiin ja edelleen kulkeutumiseen ulos pötsistä (Mertens ja Huhtanen 2007). Liukenemattomat solunseinähiilihydraatit hajoavat pötsissä hitaasti, joten niiden pötsisulavuus määräytyy suurelta osin kuidun pötsissä viipyneen ajan perusteella (Huhtanen ym. 2006b).

Pureskelu märehitijässä pienentää partikkelikokoa ja on tärkeä osa kuidun sulatusta (Huhtanen ym. 2006b). Partikkelien ulosvirtausnopeus pötsistä on kääntäen verrannollinen niiden kokoon (Poppi ym. 1980). Mitä leveämpiä ja pidempiä partikkelit ovat, sitä todennäköisemmin ne pysyvät pötsissä (Huhtanen ym. 2006b). Lechner-Dollin ym. (1991) mukaan pituutta merkittävämpi tekijä, joka estää partikkelien ulosvirtausta pötsistä on kuitenkin niiden ominaispaino. Partikkeliin jääneet fermentaatiokaasut kelluttavat äskettäin nieltynä partikkeleita (Sutherland 1988). Useiden märehitimiskierrosten ja jatkuvan fermentoitumisen seurauksena pienimmät reupartikkelit alkavat kuitenkin painua kiintojaefaasin alapuoliseen nestefaasiin, sillä sulatuksen edetessä niiden sisältämien fermentaatiokaasujen määrä vähenee. Pienimmät ja tiheimmät reupartikkelit päätyvät lopulta lähelle satakerran aukkoa ja virtaavat ulos pötsistä (Mertens ja Huhtanen 2007).

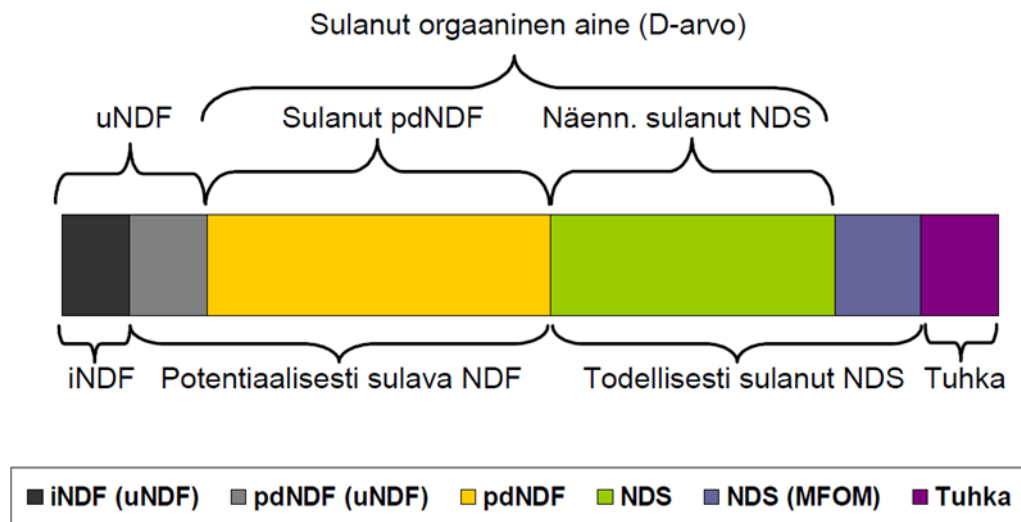
Vapaasti ruokituilla märehijöillä kiintoaineksen muodostama lautta täyttää pötsin sisällön suurelta osin ja kiinto- ja nestefaasit eivät ole selvästi erottuvia. Tällaisissa olosuhteissa kuidun sulatusta saattaa lisätä merkittävästi pienten partikkelien kiinnittyminen kiintoaineksen muodostamaan lauttaan (Huhtanen ym. 2006b).

Rehun sulatus pötsissä alkaa vasta useiden tuntien ns. viiveajan jälkeen. Sen kuluessa rehu vettyy ja mikro-organismit kiinnittyvät rehuartikkeleihin (Allen ja Mertens 1988). Viiveaika ei vaikuta sulavuuteen, sillä rehuartikkelien vettyminen on edellytys myös niiden virtaukselle. Sulatuksen ja virtauksen viipymääjat sen sijaan lisäävät pötsin täyteisyyttä, mikä puolestaan vaikuttaa syöntiin (Huhtanen ym. 2006b). Pötsin matalan pH:n on todettu vaikuttavan bakteerien nopeuteen kiinnittyä selluloosaan sekä pidentävän viipymääikää (Mourino et al. 2001).

Kuidun sulatukseen vaikuttavien sisäisten tekijöiden kuten NDF:n sulatusnopeuden ja sulatetun NDF:n määrän on todettu vähenevän nurmikasvien vanhetessa (Rinne ym. 1997). Sulatuskinetiikkaan vaikuttavia ulkoisia tekijöitä ovat mm. liiallinen tärkkelyksen, sokerien ja rasvan lisääminen dieettiin sekä dieetin liian pieni valkuaispitoisuus. Lisäksi lisääntyneen syönnin on havaittu laskevan dieetin sulavuutta sillä rehun viipymääika pötsissä on lyhentynyt (Huhtanen ym. 2006b). Syönnin lisääntymisen on oletettu heikentävän sulavuutta myös kohonneen VFA-pitoisuuden ja sen seurauksena laskeneen pötsin pH:n vaikutuksesta. Alhaisen pH:n on todettu olevan haitallinen sellulolyttisille bakteereille (Volden 1999). Myös lisääntynyt virtaus on saattanut olla syynä heikentyneeseen NDF:n sulavuuteen (Huhtanen ym. 1995). Ulkoisten tekijöiden kuten syönnin ja dieetin koostumuksen vaikutuksia soluseinäaineksen sulavuuteen pitäisi tutkia tarkemmin (Huhtanen ym. 2006b).

Vaikka pötsi tarjoaa optimaaliset olosuhteet anaerobiselle mikrobisulatukselle, hapen puute rajoittaa kuidun sulatusta sillä ligniiniä ei voida hajottaa hapettomissa olosuhteissa. Ligniinin sekä siihen välittömästi liittyneiden hiilihydraattien täydellinen sulatus pötsissä estyy ja osa kuidusta jää sulamatta vaikka sen viipymääika pötsissä olisi erittäin pitkä (Mertens ja Huhtanen 2007). Tämän vuoksi rehun sisältämä selluloosa jaetaan potentiaalisesti sulamattomaan ja potentiaalisesti sulavaan osaan (Waldo 1969) (kuva 1). On tärkeää erottaa täydellisesti sulamaton, viipymääjasta riippumaton NDF (iNDF) ja tietyssä ruokintatilanteessa sulamatta jäänyt NDF (uNDF). Potentiaalisesti sulava NDF (pdNDF)

muodostuu iNDF:n ja NDF:n erotuksena. Se on suhteellisen lyhyen fermentaatioajan (esim. 24, 30 tai 48h) jälkeen jäljellä oleva kuitujäännös (Mertens ja Huhtanen 2007).



Kuva 1. Nurmirehun kuiva-aineen jakautuminen sulamattomaan kuituun (iNDF), potentiaalisesti sulavaan kuituun (pdNDF) ja solusisällyksineisiin (NDS). Sulamaton kuitu (uNDF) muodostuu iNDF:stä ja sulamatta jääneestä pdNDF:stä. Kuvassa näkyy myös sonnan metabolinen orgaaninen aines (MFOM) (Rinne ym. 2008).

Pötsisulatuksen kuvaamiseen käytetään matemaattisia malleja, jotka pyrkivät kuvaamaan valikoivaa viipymistä. Mallit ovat kuitenkin vain yksinkertaistettuja kuvauksia ja perustuvat oletuksiin todellisesta pötsisulatuksesta (Mertens ja Huhtanen 2007). Allen ja Mertens (1988) kuvasivat valikoivaan viipymiseen perustuvan soluseinäaineksen sulatuksen. Malliin sisältyi sulava ja sulamaton NDF. Ensimmäisestä eli märehitimispoolista pdNDF joko sulatettiin ja se imeytyi pötsin seinämästä tai se siirtyi hajotuksen seurauksena toiseen, pienten partikkelien pooliin. Tästä poolista pdNDF hävisi sekä sulatuksen että virtauksen seurauksena. Sulamaton iNDF vapautui märehitimispoolista pienten partikkelien pooliin ja tästä edelleen virtaamalla ohutsuoleen.

Kuidun sulatus pötsissä on ajasta riippuva prosessi, ja siihen vaikuttavat saman aikaisesti sekä rehun sulatusnopeus (k_d) että reupartikkelien virtausnopeus ulos pötsistä (k_p) (Waldo ym. 1972). Soluseinäaineiden sulatusnopeus on hyvin hidas verrattuna virtausnopeuteen (Huhtanen ym. 2006b). Pitkä viipymäaika pötsissä parantaa soluseinäaineiden hyväksikäyttöä mutta se saattaa myös rajoittaa syöntiä. Siksi sulatusta ja

virtausta voidaan pitää keskenään kilpailevina prosesseina (Huhtanen ym. 2006b). Viipymääjan on havaittu lyhenevän (Gasa ym. 1991) ja virtausnopeuden lisääntyneen karkearehun soluseinäaineksen pitoisuuden lisääntyessä (Bosch ja Bruining 1995). On kuitenkin epäselvää, johtuuko virtausnopeuden lisääntyminen kasvuasteen edetessä kasvin sisäisistä tekijöistä vai muutoksista rehun syönnissä (Huhtanen ym. 2006b, Rinne 2002).

2.3 KUITUPITOISET UUSREHUT

2.3.1 MEKAANISESTI KÄSITELLYT NURMIREHUT

Nurmibiojalostamo on nurmibiomassaa käsittelevä biojalostamokonsepti. Sen pääasiallisia raaka-aineita ovat nurmiheinä- ja palkokasvit sekä kokoviljasäilörehukasvustot (Kamm ja Kamm 2004). Lähtökohtana biojalostamojen toiminnassa on yleensä vihreän biomassan fraktiointi kuitupitoiseen kiintojakeeseen ja ravinteikkaaseen nesteeseen (McEniry ja O`Kiely 2014). Kuitupitoisten rehujen mekaanista fraktiointia ja käyttöä kotieläinten ruokinnassa on tutkittu jo 1960-luvulla (Houseman ja Connell 1976). Eniten nurmibiojalostamokonseptin tutkimus- ja kehitystyötä on tehty Euroopan maissa kuten Itävallassa, Tanskassa, Sveitsissä ja Saksassa (Mandl 2010). Vuonna 2001 käynnistyi ensimmäinen vihreä biojalostamo Sveitsissä. Suurin osa Euroopan biojalostamoista perustuu tuoreen ruohon tai säilörehun fraktioimiseen.

Tehdyistä tutkimuksista ja teknologisista panostuksista huolimatta biojalostamoprosessissa muodostuneita kiinto- ja nestejakeita käytetään tällä hetkellä kotieläinten käytännön ruokinnassa varsin vähän (Xiu ja Shahbazi 2015). Niitä on kaupallistettu tiettävästi vain Hollannissa. Vaikka Tanska on edelläkävijä biotuotteiden jalostukseen liittyvän tekniikan kehittämisessä, nurmentuotannon lisääminen ja sen prosessointi edelleen kotieläinten rehuksi teollisessa tuotannossa on vielä suunnitteluvaiheessa (Lange 2019). Biojalostamoissa tuotettujen kiintojakeen ja nesteen rehukäyttöä sekä yksimahaisilla että märehtijöillä yritetään edistää Euroopassa mm. monikansallisten hankkeiden avulla (Adler 2018b). Suomessa aihetta kehitettiin eteenpäin mm. Innofeed-hankkeessa (<https://www.ibcfinland.fi/>).

Yleisimmin käytetty menetelmä biomassan fraktioinnissa on kaksoisruuvipuristus (Kamm ja Kamm 2007). Myös yksinkertaista ruuvipuristinta käytetään (Pijman ym. 2018). Ennen fraktiointia materiaali yleensä hienonnetaan, jotta partikkelikoko pienenee, kulku laitteiston

läpi nopeutuu ja nestesaanto kasvaa. Tilamittakaavan fraktiointia varten rehun partikkelikoko yleensä pienenee nurmikasvustojen niiton ja pelloilta keruun seurauksena. Kaksoisruuvipuristimen poikittainen liike ja hiertäminen sekä voimakas puristus hajottavat tehokkaasti kasvin rakennetta särkemällä soluseiniä (McEniry ja O`Kiely 2014).

Nurmirehujen fraktiointia on tutkittu keinona parantaa ravinteiden hyväksikäyttöä. Turvemaille tuotetun viherrehun typpi- ja fosforipitoisuudet ovat korkeat verrattuna kivennäismailla tuotettuun rehuun. Korvaamalla osa turvemaille tuotetusta säilörehusta fraktioidulla rehulla voidaan rehuannoksen ravinnepitoisuuksia pienentää typen ja fosforin hyväksikäyttöä kotieläintuotannossa tehostaa (Pijman ym. 2018).

Fraktioinnissa muodostunut kiintojake koostuu pääasiassa kasvin soluseinäaineksesta eli selluloosasta, hemiselluloosasta ja ligniinistä (Kamm ja Kamm 2004). Kiintojakeen käyttöä märehitijöiden karkearehuna on tutkittu muutamissa kokeissa (Bryant ym. 1983, Broderick ym. 1999; Pijman ym. 2018, Damborg ym. 2019). Sen sisältämä valkuainen on suurelta osin sitoutunut soluseinään, joten märehitijät pysyvät käyttämään sen hyväkseen (Edwards ym. 1975). Tämä parantaa biojalostamossa prosessoitujen ruohokasvien kokonaishyväksikäyttöä.

Erottunut neste sisältää solunsisällysaineita kuten valkuaisaineita, vapaita aminohappoja, vesiliukoisista hiilihydraatteja, orgaanisista happoja sekä kivennäis- ja hivenaineita (Kamm ja Kamm 2004). Nestejakeen koostumus on erilainen tuoreessa ja säilötyssä nurmirehussa. Nestejakeen aminohappopitoisuus on korkeampi säilörehusta puristetussa nesteessä tuoreeseen ruohoon verrattuna ja se sisältää VFA:ta ja etanolia (McEniry ja O`Kiely 2014). Nestejakeen saantoa voidaan lisätä käsittelemällä nurmirehu kuitua hajottavilla entsyymeillä ennen säilöntää (Rinne ym. 2020). Myös käytetty säilöntäaine vaikuttaa puristetun nesteen ravinnepitoisuuksiin (Rinne ym. 2018a). Francon ym. (2019) tutkimuksissa todettu säilörehun laadun ja muodostuneen nestejakeen määrän ja koostumuksen välinen vahva korrelaatio auttaa saavuttamaan nurmibiojalostamoiden tuotteiden laatuvaatimukset.

Nurmibiomassan arvokas ainesosa on valkuainen. Nestejakeen sisältämällä valkuaisella voitaisiin Hermansenin ym. (2017) mukaan eläinravitsemuksessa korvata soija valkuaisen lähteenä. Fraktioidun nesteen valkuaisen koostumusta, laatua sekä ravitsemuksellista arvoa yksimahaisten ruokinnassa on selvitetty useissa tutkimuksissa (Houseman ja Connell 1976, Pirie 1978, Chiesa ja Gnansounou 2011, Adler ym. 2018, Rinne ym. 2018b, Stødkilde ym. 2018, Hulkkonen 2019, Kamppari 2019). Näissä tutkimuksissa saatujen tulosten

perusteella nurmikasveista erotetun nesteen käyttöä yksimahaisten ruokinnassa voidaan suositella. Nestejae voidaan käyttää yksimahaisten rehuna sellaisenaan (Keto ym. 2020) tai sen sisältämä valkuainen konsentroida käytettäväksi lypsylehmien (Damborg ym. 2019) tai sikojen ja siipikarjan rehuna (Bryant ym. 1983, Damborg 2019). Nurmenviljelyn sisällyttäminen sikatilojen viljelykiertoon tavoitteena sekä rehun- että biokaasun tuottaminen on saatujen tulosten perusteella suositeltavaa (Tampio ym. 2019).

Tutkimustuloksia nurmesta fraktioidun kiintojakeen käytöstä lypsylehmien rehuna on vaikea verrata toisiinsa. Muodostuneiden kiinto- ja nestejakeiden kemialliseen koostumukseen vaikuttavat mm. fraktioinnissa käytetty laitteisto ja sen teho (Houseman ja Connell 1976, Rinne ym. 2018c, Franco ym. 2019). Nämä tekijät vaikuttavat myös kiintojakeen fysikaalisiin ominaisuuksiin ja siten myös sulavuuteen ja tuotokseen. Damborgin ym. (2019) ja Bryantin ym. (1983) kokeissa käytettiin teollisuusmittakaavan kaksoisruuvipuristinta. Pijmanin ym. (2018) kokeessa käytettiin vain yhden ruuvipuristinta.

Jakeiden kemialliseen koostumukseen vaikuttavat käytetyn tekniikan lisäksi myös fraktioitava kasvilaji ja kasvuaste (Houseman ym. 1976). Pijmanin ym. (2018) kokeessa käytettiin heinäkasveista tehtyä säilörehua. Bryantin ym. (1983) kokeessa fraktioitavana laidunkasvina oli sinimailanen. Damborgin ym. (2019) kokeessa säilörehunurmi koostui englanninraiheinästä sekä puna- ja valkoapilasta. Kontrollisäilörehu korjattiin huonojen sääolosuhteiden vuoksi viikkoa myöhemmin kuin fraktioitu koerehu, mikä aiheutti verrattavien rehujen välille myös kasvuasteen etenemisestä johtuvat kemiallisen koostumuksen muutokset. Rinteen ym. (1997) mukaan kasvuasteen eteneminen lisää NDF-pitoisuutta ja lignifioitumisastetta ja vähentää raakavaluapitoisuutta. Myös kasvuston lannoitus vaikuttaa fraktioinnin lopputuotteiden koostumukseen (Houseman ym. 1976).

Vaikka fraktiointi poistaa rehun kiintojakeesta liukoisia ravinteita, sen sulavuus voi siitä huolimatta jopa parantua. Fraktioinnin mekaaninen vaikutus rehuartikkeleihin hajottaa kasvisoluja ja vaurioittaa kuidun rakennetta (Damborg ym. 2018). Rehun mekaanisten käsittelyjen on havaittu lisäävän kuidun pötsisulavuutta erottamalla lignifioituneita ja lignifioitumattomia soluja ja lisäämällä rehuartikkeleiden pinta-alaa pötsimikrobien kiinnittymistä ja entsyymisulatusta varten (Hintz ym. 1999). Tätä fraktioinnin aiheuttamaa karkearehun mekaanista käsittelyä voidaan verrata muihin nurmirehujen mekaanisiin käsittelymenetelmiin. Erilaisten mekaanisten käsittelyjen tavoitteena on ollut sekä parantaa karkearehun sulavuutta märehittäjillä (Mertens ja Koegel 1996, Weisjberg ym. 2018) että lyhentää sen esikuivatusaika pellolla sekä parantaa rehun tiivistymistä säilöttäessä (Hintz

ym. 1999). Tutkittuja karkearehun mekaanisia käsittelymenetelmiä ovat mm. maserointi (Hinz ym. 1999) ja repiminen (Weisbjerg ym. 2018).

Maserointi on niittomurskausta tehokkaampi karkearehun mekaaninen käsittely-menetelmä, ja sen seurauksena mm. kasvuston kuivumisaika pellolla lyhenee niittomurskaukseen verrattuna (Kraus ym. 1990 ref. Hintz ym. 1999). Maseroinnissa käytetty traktorivetoinen laite koostuu vastaterästä, jonka siirtää katkaistun kasvuston kahden vastakkain pyörivän rullan väliin. Nämä sylinterimäiset rullat litistävät varsiosat tehden niihin pitkittäisiä halkeamia. Kolmannen rullan pinnalla on harjanteita, jotka avaavat muodostuneet halkeamat ja varren kuiturakenteen kasvimassan kulkiessa sen välitse takaisin peltoon kuivumista edistäväksi matoksi (Koegel ym. 1992).

Maserointi vaurioittaa kasvisolukon pinnan vahakerrosta, jolloin veden haihtuminen kasvusta nopeutuu. Lisäksi maserointi murskaa ja repii kasvien lehtiä sekä edistää varsien ja lehtien sekoittumista tasaisesti rehumassaan (Shinners ym.1987 ref. Hintz 1999). Maseroinnilla on myös muita kuin korjuuteknisiä vaikutuksia karkearehuun. Maseroinnin kuten biojalostamoprosessin fraktioinninkin seurauksena karkearehun rakenne avautuu ja pötsimikrobien kiinnittymispinta-ala lisääntyy (Hintz ym. 1999). *In vitro* -tulosten perusteella maseroinnin on havaittu nopeuttavan NDF:n sulatusta ja *in vivo* -tulosten perusteella lisäävän maitotuotosta (Hintz ym. 1999). Huolimatta positiivista vaikutuksistaan maserointi ei kuitenkaan ole laajalti käyttöön otettu karkearehun käsittelymenetelmä. Sitä on tutkittu lähinnä vain Yhdysvalloissa. Maseroinnin energian- ja kalustontarve sekä lehtien varisemisriski ovat luultavasti olleet esteenä sen käytön yleistymiselle tiloilla (Weisbjerg ym. 2018).

Weisbjerg ym. (2018) selvittivät repimiskäsittelyn vaikutuksia karkearehun fysikaalisiin ominaisuuksiin ja sulavuuteen. Heidän käyttämänsä repijälaitte koostui pyörivästä telasta ja sitä ympäröivästä kuoriosasta. Telan ja sen kuoren pinnalla oli teräksisiä harjanteita, jotka aiheuttivat sinne syötetyn rehumassan mekaanisen hankautumisen. Maserointi tai repiminen eivät kumpikaan silpunneet tai hienontaneet kasvustoa. Repimiskäsittely eroaa maseroinnista siten, että siinä on vain yksi rehumassaa käsittelevä rulla maserointilaitteen kolmen rullan sijaan. Käytetyn laitteiston toiminnan perusteella maserointia voidaan pitää tehokkaampana karkearehun fysikaalisena käsittelymenetelmänä kuin repimistä. Repimisen vaikutusten on havaittu olevan suuremmat normaalilla ja sitä myöhäisemmällä kasvin kehitysasteella tehdyllä käsittelyllä hyvin aikaiseen korjuuseen verrattuna (Weisbjerg

ym. 2018). Maseroinnin on todettu soveltuvan etenkin sinimailasen käsittelyyn (Hintz ym. 1999) luultavasti sen vahvan varren vuoksi.

2.3.2 PUUPOHJAISET MATERIAALIT

Ligniinin sitoutuminen soluseinähiilihydraatteihin sekä selluloosan tiivis kiderakenne estävät pötsin mikrobientsyymejä hajottamasta puuta (Tagikawa 1987). Käsittelemättömien eri puulajien *in vitro* -sulavuudet vaihtelevat 0,20 – 0,35 välillä. Ne olivat matalampia lehtipuilla kuin havupuilla (Millett ym. 1970). Märehtijöillä ka:n syönnin ja päiväkasvun on todettu vähenevän, jos dieetti sisältää yli 15 % käsittelemätöntä puuta tai puutähdettä (Butterbaugh ja Johnson 1974). Sulavuuden parantamiseksi puumateriaali on käsiteltävä jollain tavalla (Tagikawa 1987) ja ligniinin poistaminen on parantanut merkittävästi puupohjaisen materiaalin sulavuutta (Saarinen ym. 1959). Kun selluloosasta saadaan poistettua tarpeeksi ligniiniä, sitä voidaan käyttää eläinten ravinnoksi (Orth ym. 1977).

Puhtaan puupohjaisen selluloosan sulavuus on lähes verrattavissa ohran sulavuuteen (Saarinen ym. 1959). Teknisen selluloosanvalmistuksen sivutuotteiden sulavuutta ja ravintoarvoa nautojen ja muiden kotieläinten rehuna on tutkittu Skandinavian maissa ja Suomessa jo 1940-luvulta asti (Saarinen ym. 1959). Saarinen ym. (1959) tutkivat 40 eri menetelmällä tuotetun puusellun sulavuutta lampailta tehdyissä sulavuuskokeissa. Ligniiniipitoisuudesta riippuen sellun *in vivo* -sulavuus vaihteli väillä 0,27 – 0,90. Selluloosan ligniiniipitoisuus massanvalmistuksessa on niin korkea, että paperinvalmistuksen raaka-ainetta ei voida käyttää nautojen ruokinnassa ilman, että sen sisältämä ligniini poistetaan. Myös muut pötsin toimintaa heikentävät puun luontaiset ainesosat kuten alkaloidit ja fenolit sekä muut mikrobeille ja isäntäeläimelle haitalliset aineet pitäisi pyrkiä prosessoinnissa poistamaan (Orth ym. 1977).

Nautojen ruokinnassa voitaisiin käyttää puuta tai puupohjaisia tuotteita joko kuidun tai energian lähteenä (Orth ym. 1977). Vaikka puupohjaisia materiaaleja ei yleisesti käytetä märehitijöiden ruokinnassa, niiden sopivuutta rehukäyttöön on yritetty parantaa monin eri tavoin (Tagikawa 1987). Emäksisten kemikaalien käyttöä mahdollisten puupohjaisten rehumateriaalien ligniinin ja selluloosan välisten sidosten hajottamisessa on tutkittu 60-luvulta lähtien (Millett ym. 1973) ja 1970-luvun alussa happohydrolysoidut puupohjaiset materiaalit olivat nautojen ruokinnassa mielenkiinnon kohteena. *In vivo* -sulavuuksia emäs- ja happohydrolysoitujen puupohjaisten materiaalien rehukäytössä on tutkittu lampailta (Näsi

1984) ja vuohilla (Butterbaugh ja Johnson 1974). Näsi (1984) tutki useiden erilaisten metsäbiomassojen sekä energiapajun sulavuutta ja vaihtelu tutkittujen materiaalien välillä oli suurta. Pilkottujen vesojen ja lehtien sulavuus oli matalin (0,20) ja liukosellun, josta hemiselluloosa oli liuotettu pois ennen keittovaihetta, sulavuus oli korkein (0,75) tutkituista materiaaleista.

Biotalouden edistämisen näkökulmasta paperi- ja selluteollisuuden sivutuotteena muodostuvan hemiselluloosan käyttö märehijöiden ruokinnassa tehostaisi luonnonvarojen kestäväää käyttöä. Hemiselluloosaa muodostuu vuosittain 1,5 miljoonaa tonnia eikä sitä läheskään kaikkea hyödynnetä (Rinne ja Kuoppala 2019). Höyryräjäytys on puun prosessointimenetelmä, jossa nopean, korkeassa lämpötilassa ja paineessa tapahtuvan höyrytyksen jälkeen paine lasketaan nopeasti. Tämän seurauksena lehtipuun hemiselluloosa hydrolysoituu pienimolekyyliseksi, muuttuu vesiliukoiseksi ja on helpommin mikrobientsyymien hajotettava ligniinin regeneroitumisen seurauksena (Tagikawa 1987).

Höyryräjäytetyn koivun (Tesfa ym. 1992, Kaustell ja Tuori 1993) ja haavan (Fisher 1980) sekä höyryllä erotetun hemiselluloosan eli Temuloosin (Herrick ym. 2012) käyttöä märehijöiden rehuna on tutkittu. Myös paineistetulla kuumavesiuutolla (Leppänen ym. 2011) tuotettujen hemiselluloosajakeiden soveltuvuutta rehukäyttöön on selvitetty märehijöillä (Rinne ym. 2016). Kasvavien nautojen ja lypsylehmien ruokinnassa jopa 10 % ka:n saannista on ollut peräisin erilaista hemiselluloosajohdannaisista ilman haitallisia vaikutuksia kasvuun tai tuotokseen (Zinn ym. 1990, 1993, Herrick ym. 2012).

Tutkituista puun sulavuutta parantavista menetelmistä minkään ei ole kuitenkaan osoitettu sopivan käytännön rehuntuotantoon. Puupohjaisten materiaalien käytön pitää olla taloudellisesti kilpailukykyistä tavanomaisten rehujen käytön kanssa (Tagikawa 1987). Tällä hetkellä sellun korkea maailmanmarkkinahinta nostaa massanvalmistuksen sivutuotteiden käytön eläinten rehuna kannattamattomaksi (Rinne ja Kuoppala 2019). Lisäksi korkeat tuotantokustannukset johtuen myös mm. pitkästä prosessointiajasta ovat rajoittaneet puupohjaisen materiaalin käyttöä. Myös sulavuuden parantuminen on ollut riittämätöntä prosessoinnista huolimatta. Prosessien ympäristövaikutukset kuten jätevesien käsittelytarve ovat myös rajoittaneet puun käyttöä rehuraaka-aineena (Orth ym. 1977, Tagikawa 1987).

Tässä työssä käytetyn puupohjaisen rehumateriaalin MCC:n tuotantoprosessi oli energiatehokas ja sen vedentarve oli vähäinen (Vanhatalo 2017). Lisäksi MCC:tä voidaan

valmistaa jo olemassa olevilla kaupallisilla selluntuotantolaitteistoilla ja aiempaa pienemmillä kemikaalimäärillä Aalto-yliopiston kehittämällä valmistusprosessilla (Dahl ym. 2011a, 2011b). Puunjalostusteollisuuden lähivuosille suunnitellut investoinnit voisivat toteutuessaan nostaa MCC:n tuotantokapasiteetin Suomessa 500 000 tonniin vuodessa, jolloin sen maailmanmarkkinahinta luultavasti laskisi nykyisestä. Lisäksi tuotannon sivutuotteina syntyy käymiskelpoisia sokereita biokaasun, etanolin ja tiettyjen muovilaatujen tuotantoon, joista on maailmanlaajuisesti pulaa (Kujala 2018).

3. TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA HYPOTEESIT

Tämän tutkimuksen tarkoitus oli tutkia kuitupitoisten uusrehujen eli säilörehusta biojalostamoprosessissa fraktioidun kiintojakeen (I) ja mikrokiteisen selluloosan (MCC) (II) käyttöä lypsylehmien rehuna korvaamalla niillä osa dieetin karkearehua (I) tai väkirehua (II) lypsylehmien ruokinnassa. Kuitupitoisten uusrehujen vaikutuksia tutkittiin kokeissa I ja II syönnin, sulavuuden, pötsifermentaation sekä maidontuotantotulosten suhteen.

Tutkimushypoteesit tässä opinnäytetyössä olivat:

- Kuitupitoisten uusrehujen käyttö lypsylehmien nurmisäilörehun (I) ja ohran (II) korvaajina ei vähennä maitotuotosta, sillä lisääntynyt syönti ja tehostunut kuidun sulatus kompensoivat dieetin kuitupitoisuuden lisääntymisen.
- Fraktioinnin aiheuttama rehun fysikaalisen olomuodon muuttuminen estää kiintojaetta sisältävien dieettien sulavuuden heikkenemisen niiden lisääntyneestä kuitupitoisuudesta huolimatta.
- Mikrokiteinen selluloosa on fysikaaliselta olomuodoltaan sekä maittavuudeltaan soveltuvaa lypsylehmien dieettiin.
- Säilörehun osittainen korvaaminen kiintojakeella ja ohran korvaaminen kuitupitoisella MCC:llä lypsylehmien rehuannoksessa nostaa pötsin pH:ta ja tasaa sen vaihteluita.
- Märehtijät pysyvät käyttämään hyväkseen kuitupitoisia uusrehuja, mikä tehostaa ihmisravinnoksi kelpaamattomien biomateriaalien käyttöä osana kestäväää ruokajärjestelmää.

4. AINEISTO JA MENETELMÄT

Tähän kokonaisuuteen sisältyy kaksi julkaisua (I ja II) (taulukko 1). Julkaisuissa on dokumentoitu kaksi lypsylehmillä suoritettua maidontuotantokoea, joissa tutkittavana uusrehukomponenttina oli säilörehun kiintojake (I) ja MCC (II). Kokeet suoritettiin Luonnonvarakeskuksen (Luke) Jokioisten toimipaikassa. Nurmisäilörehu kokeeseen I fraktioitiin Luken Jokioisten toimipaikassa. Kokeessa II käytetty MCC valmistettiin Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoulun (XAMK) Kuitulaboratoriossa Savonlinnassa. Koejärjestelyt, kemialliset analyysit, laskelmissa käytetyt kaavat sekä mitatut muuttujat on kuvattu yksityiskohtaisesti alkuperäisissä julkaisussa (I ja II). Tämän vuoksi tässä luvussa on vain yleiskuvaus kokeista sekä yhteenveto taulukossa 1. Kokeissa käytetyt menetelmät olivat kansallisen eläinlääketieteellisen tutkimuskeskuksen hyväksymiä, EU direktiivin 2010/763 EU ja nykyisen Suomen eläinlääkintälainsäädännön mukaisia.

Taulukko 1. Yhteenveto tässä tutkimuksessa raportoiduista julkaisuista ja kokeista.

Julkaistu/Koe	Eläimet	Koejärjestely	Tutkittu uusrehu	Mitatut muuttujat
I	18 lypsylehmää ja 6 pötsifistelöityä lypsylehmää	3 × 2 epätäydellinen change over -koemalli	Säilörehun biojalostamo- prosessissa muodostunut kiintojake (kiintojake)	Rehun syönti, pötsifermentaatio, sulavuus, maitotuotos ja maidon koostumus
II	20 lypsylehmää ja 4 pötsifistelöityä lypsylehmää	3 × 2 epätäydellinen change over -koemalli	Mikrokiteinen selluloosa (MCC)	Rehun syönti, pötsifermentaatio, sulavuus, maitotuotos ja maidon koostumus

4.1 KOEREHUJEN TUOTTAMINEN

4.1.1 PERUSREHUT

Kokeissa I ja II perusrehuna oli timoteista ja nurminadasta tehty säilörehu. Kasvustot korjattiin Luke Jokioisten toimipaikan ensimmäisestä sadosta kesäkuussa 2017. Kevyen esikuivatuksen jälkeen kasvustot kerättiin niittomurskaimella säilöttäväksi laakasiiloihin. Käytetty säilöntäaine oli muurahaishappopohjainen (AIV 2 Plus Na kokeessa I, AIV 2

kokeessa II) ja sen annostusmäärä oli 5 l/t. Kaikki kokeissa I ja II käytetyt väkirehukomponentit pelletöitiin Luke Jokioisten rehusekoittamalla. Rakeinen kivennäis- ja hivenaineseos sekoitettiin väkirehukomponentteihin.

4.1.2. SÄILÖREHUN KIINTOJAE

Osa nurmisäilörehusta fraktioitiin neste- ja kiintojakeeksi tilamittakaavan biojalostamon toimintaperiaatteen mukaisesti kaksoisruuvipuristimella (Haarslev Industries A/S, Søndersø, Tanska). Fraktiointi tapahtui Luke Jokioisten tutkimusnavetan yhteydessä olevassa rehuvarastossa. Fraktioitava säilörehu purettiin kaksoisruuvipuristimelle vaa´allisesta seosrehuvaunusta. Jotta puristus oli mahdollisimman tasainen, seosrehuvaunun purkuhihnalta pudonnut säilörehu tiivistettiin kaksoisruuvipuristimen syöttösuppilon käsin puisen seipään avulla. Vaakasuurassa pyörivien kaksoisruuvien päällä oli metallilevy, jonka rei`istä säilörehusta erottunut neste valui alapuolella olevaan altaaseen. Neste pumpattiin 1000 l:n säiliöön. Massataseen määrittämiseksi nestejakeen määrä arvioitiin tilavuuden perusteella. Ruuvit työnsivät kiintojakeen ulos puristimesta mattokuljettimelle, jota pitkin se siirtyi varastoitavaksi. Lämpenemisen estämiseksi kiintojakeeseen sekoitettiin muurahais- ja propionihappopohjaista säilöntäainetta (AIV Ässä Na) 5 l/t välittömästi fraktioinnin jälkeen.

Säilörehua fraktioitiin kokeen aikana viikoittain. Ennen jokaista fraktiointia kaksoisruuvipuristinta käytettiin tyhjäkäynnillä 15 minuuttia, jotta paine nousi optimaaliseksi. Käsitellyn säilörehun kokonaismäärä oli 34 400 kg. Muodostuneen kiintojakeen osuus säilörehun tuorepainosta oli 0,42 ja kuiva-aineesta 0,81.

Fraktiointi muutti säilörehun kemiallisen koostumuksen lisäksi myös säilörehun fysikaalista olomuotoa (kuva 2). Nestejakeen poistumisen seurauksena kiintojake oli huomattavan kuivaa ja irtonaista. Lisäksi rehupartikkeleissa oli selvästi nähtävissä mekaanisen käsittelyn aiheuttamat jäljet. Etenkin kasvien lehdissä näkyi kasvisolukon osittainen repeytymien, mutta suurin osa rehupartikkeleista pysyi silti koossa. Myös varsiosissa partikkelin pinta oli selvästi rikkoutunut ja siinä oli painaumuksia. Partikkelikoko pieneni vain vähän.



Kuva 2. Käsittelemätöntä nurmisäilörehua (vas.) ja tilamittakaavan kaksoisruuvipuristimella fraktioitua säilörehun kiintojaetta (oik.) kokeesta I. Kiintojakeessa on nähtävissä fraktioinnin aiheuttama kasvin rakenteen rikkoutuminen (Kuva Luke/Marketta Rinne).

4.1.3. MCC

Mikrokiteinen selluloosa ruokintakokeeseen (II) valmistettiin XAMK:n kuitulaboratoriossa Savonlinnassa. Raaka-aineena oli suomalaisen sellutehtaan massanvalmistuslinjasta ennen valkaisu vaihetta otettu havupuusellu. MCC:n valmistusprosessin happohydrolyysivaihe tehtiin jatkuvatoimisella bioreaktorilla AaltoCell™-valmistusmenetelmän (Dahl ym. 2011a, 2011b) mukaisesti. Saatua MCC pestiin siten, että suodoksen pH oli 3,5 ja sakeutettiin suotonauhapesurilla kuiva-aineeseen 270 g/kg. MCC:n valmistusprosessin saantoa vähensivät raaka-aineena käytetyn massan hemiselluloosien liukeneminen happohydrolyysissä sekä häviöt laitteiston tyhjennyksissä ja pesuissa. Bioreaktorin kapasiteetin vuoksi happohydrolyysivaihe MCC:n valmistuksessa oli lähes jatkuva.

Mikrokiteistä selluloosaa toimitettiin Luke Jokioisten tutkimusnavetalle useita kertoja kokeen aikana. Ruokintakokeessa käytettiin kosteaa MCC:a (kuva 3). Kosteaa MCC:n käyttö nopeutti tuotantoprosessia ja pienensi tuotantokustannuksia. Lisäksi poissuljettiin kuivaamisen mahdollisesti aiheuttamat MCC:n toiminnallisten ominaisuuksien muutokset.



Kuva 3. Mikrokiteistä selluloosaa (MCC) kokeesta II. Koerehu oli kosteaa (270 g kuiva-ainetta/kg) ja helposti muovautuvaa (Kuva Outi Savonen).

4.2. ELÄIMET, RUOKINTA JA KOEKÄSITTELYT

Kokeet I ja II olivat maidontuotantokokeita suomalaisilla, useamman kerran poikineilla ayrshirelehmillä. Koejärjestelyinä oli 3 x 2 Change over -koemalli, joissa oli 2 jaksoa ja 3 käsittelyä. Kokeessa I tutkittiin biojalostamoprosessissa syntyneen nurmisäilörehun kiintojakeen vaikutusta lypsylehmien ruokinnassa. Kokeessa I kiintojake muodosti lehmien karkearehuannoksesta 0, 0,25 tai 0,50. Kokeessa II tutkittiin MCC:n vaikutuksia lypsylehmien ruoansulatukseen ja maidontuotantoon. Kokeessa II MCC korvasi dieetissä ohraa ja sen käyttömäärät olivat 0, 0,01 tai 0,1 g/kg dieetin ka. Kummassakin kokeessa oli mukana 24 lehmää, jotka jaettiin neljään blokkiin. Pötsifistelöidyt lehmät muodostivat yhden

blokin. Lehmät jaettiin kolmeen muuhun blokkiin maitotuotoksen, poikimakerran ja lypsykauden vaiheen mukaan. Blokkien lehmät arvottiin koekäsittelyille.

Change over -koemallin avulla voitiin kahden jakson pituiseen kokeeseen sisällyttää kaikki kolme koekäsittelyä. Kaikki lehmät eivät kuitenkaan olleet kaikilla ruokinnoilla. Kummassakin kokeessa koejakson pituus oli 21 päivää, josta keruukautta oli viimeiset seitsemän päivää. Asteittaista totuttamista MCC-komponenttiin ei ollut koejakson ensimmäisellä viikoilla, koska sen käyttömäärä oli pieni. Kiintojakeen arvioitiin eroavan käsittelemättömästä säilörehusta niin vähän, että totuttamista ei tarvittu.

Lehmät olivat pihattonavetassa, jossa oli automaattinen tunnistusjärjestelmä yksilöllistä ruokintaa ja lypsyä varten. Kokeessa I karkearehu ja väkirehu jaettiin erikseen ja kokeessa II käytettiin seosrehuruokintaa. Kummassakin kokeessa pieni osa väkirehusta annettiin lypsyasemalla. Karkearehua ja seosrehua lehmät saivat vapaasti. Tämän varmistamiseksi tähdettä piti jäädä noin viisi prosenttia annetusta ka:sta. Vettä oli vapaasti tarjolla koko kokeen ajan. Lehmät lypsettiin kaksi kertaa päivässä lypsyasemalla kello 7.00 ja 17.00. Ruokinta perustui nurmisäilörehuun ja dieetin väkirehu-karkearehusuhde oli 0,5:0,5. Kaikkien ruokintojen pötsin valkuaistase (PVT) säädettiin positiiviseksi väkirehuun sisällytetyllä valkuaistäydennyksellä.

4.3 MITTAUKSET JA LASKELMAT

Kummassakin kokeessa näytteet kerättiin koejaksojen päivinä 15 - 21. Molemmissa kokeissa syönti määritettiin syödyn ja tähteksi jääneen rehun erotuksena. Pötsinestenäytteet otettiin kokeessa I kello kuusi aamulla sekä 3 ja 6 tunnin kuluttua ensimmäisestä näytteenotosta. Sontanäytteet kerättiin peräsuolesta aamu- ja iltalypsyjen jälkeen neljän päivän ajan. Kokeessa II pötsinestenäytteet otettiin 1,5 tunnin välein klo 6 - 16.30. Pötsinestenäytteitä otettiin kokeessa I kolme ja kokeessa II yhteensä seitsemän. Maitotuotos mitattiin keruuviikolla päivittäin ja maitonäytteet otettiin keruuviikon kahtena viimeisenä päivänä, neljänä peräkkäisenä lypsykertana. Niistä analysoitiin rasva, valkuainen, laktoosi, urea ja kokonaiskuiva-aine.

Karkearehujen ME-arvo laskettiin kokeissa I ja II seuraavasti: D-arvo (g/kg ka) \times 0,016 (MAFF 1984). Väkirehujen ME-arvojen määrittäminen kummassakin kokeessa perustui sulaviin ravintoaineisiin (MAFF 1984). Sulavuuskertoimet olivat Rehutaulukot ja ruokintasuositukset -julkaisusta (Luke 2019b) samoin kuin ohutsuolesta imeytyvän valkuaisen (OIV) ja PVT:n laskukaavat. Energiakorjattu maitotuotos (ekm) laskettiin Sjaunjan (1990) mukaan. Ravintoaineiden *in vivo* -sulavuus määritettiin käyttämällä merkkiaineina happoon liukenematonta tuhkaa (AIA) (Van Keulen ja Jung 1977) ja sulamatonta neutraalidetergenttikuitua (iNDF) (Huhtanen ym. 1994).

Lehmien ME:n saanti määritettiin kummassakin kokeessa neljällä eri tavalla. Ensimmäisessä menetelmässä (ME_{LAB}) laboratorioanalyysiin perustuneet ME-arvot (MJ/kg ka) kerrottiin niiden saannilla. ME_{KORJ.} korjasi ME:n saantia käyttämällä Luken (2019b) määrittämiä korjauskertoimia, joiden avulla kuiva-aineen saannin ja dieetin ME-pitoisuuden negatiiviset sekä dieetin rv-pitoisuuden positiiviset vaikutukset ME:n saantiin voitiin ottaa huomioon. Kolmas ja neljäs tapa ME:n saannin arvioimiseen perustui AIA- ja iNDF-merkkiaineiden avulla määritettyyn oa:n sulavuuteen (ME_{AIA}, ME_{iNDF}). Yhden kilon sulavaa oa:tta oletettiin antavan lehmälle 16 MJ ME.

Typen hyväksikäyttö maidontuotantoon laskettiin kokeissa I ja II maidossa eritetyn typen (kg) ja typen saannin (kg) suhteena.

4.4 TILASTOLLISET MENETELMÄT

Kummankin kokeen tulosten tilastolliset analyysit tehtiin käyttäen SAS:in MIXED-proseduuria. Sekä kokeessa I että kokeessa II ruokintakäsittely oli kiinteä tekijä ja eläin satunnaistekijä. Tilastolliset mallit olivat samat kummassakin kokeessa sekä ruokintakäsittelyille että pötsinestenäytteille. Tilastollinen malli oli:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + C(B)_j + P_k + T_l + \varepsilon_{ijkl},$$

missä μ oli yleiskeskisarvo, B_i blokki, $C(B)_j$ lehmä blokissa, P_k jakso, T_l käsittelyn vaikutus ja ε_{ijkl} virhetermi. Pötsinestenäytteiden analysointia varten tilastolliseen malliin lisättiin näytteenottoaika (TH)_{lm}.

Tulokset taulukoitiin pienimmän neliösumman keskiarvoina, joiden virhevaihtelun määrää kuvasi keskiarvon keskivirhe (SEM). Kiintojakeen ja MCC:n vaikutusten neliösummat jaettiin kontrasteihin, jotta voitiin testata kuitupitoisten uusrehujen lineaarisen tai käyräviivaisen vaikutuksen merkitsevyys. Keskiarvojen parittaiset vertailut tehtiin Tukeyn testillä. Kokeessa II kontrastikertoimet mukautettiin vastaamaan epätasaisia välejä MCC:n käyttömäärissä. Käsittelyjen vaikutukset olivat merkitseviä, kun $P < 0.05$ ja suuntaa-antavia kun $P < 0.10$.

5.TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

5.1. KOEREHUT

Kokeissa I ja II käytettyjen perusrehujen kemialliset koostumukset olivat tyypillisiä Suomessa käytettyjä rehuja (Salo ym. 2014, Luke 2019b).

Kiintojakeen kuiva-aine- ja NDF-pitoisuudet olivat korkeammat kuin fraktioimattomalla säilörehulla, mutta sen rv-pitoisuus oli matalampi kuin fraktioimattoman säilörehun (kuva 4). Nämä samat kemiallisen koostumuksen muutokset tapahtuvat myös nurmikasvien kehitysasteen edetessä (Rinne ym. 1997). Erona fraktioinnin vaikutuksiin on kuitenkin se, että kasvin vanhetessa nurmirehun kuidun koostumus muuttuu lignifioitumisasteen lisääntymisen vuoksi.

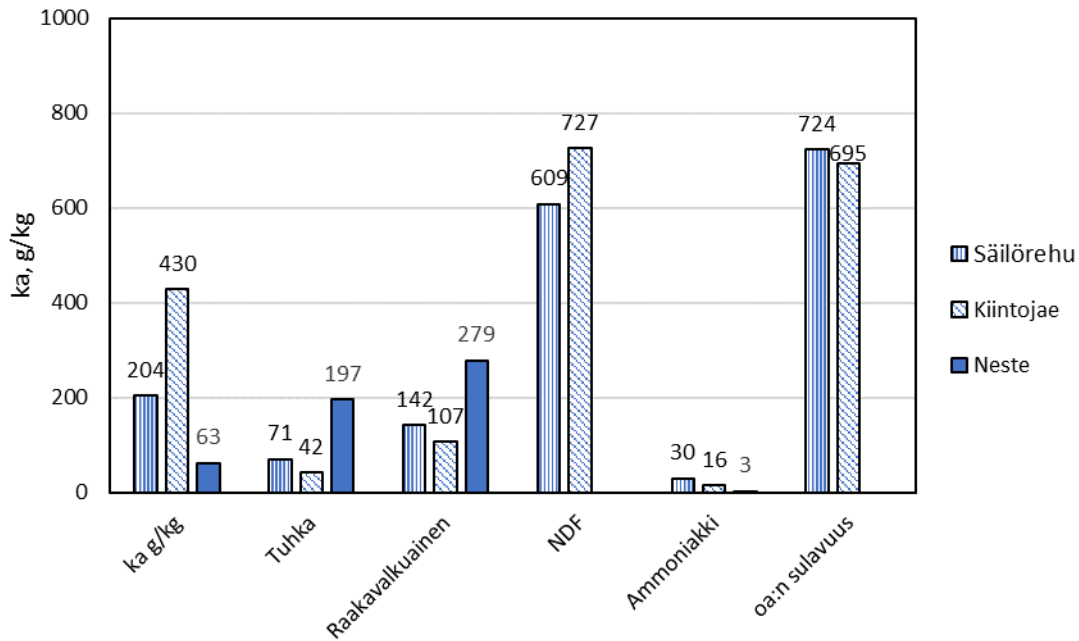
Kiintojakeen ka-pitoisuus kokeessa I oli 49 % korkeampi kuin fraktioimattoman säilörehun ka-pitoisuus. Kokeessa I ka-pitoisuus lisääntyi fraktioitaessa hieman vähemmän kuin keskimäärin ruuvipuristuskäsitellyillä sinimailas-, apila- ja heinäkasvustoilla todettu 55 - 60 % (Kamm ym. 2009). Raiheinästä ja valkoopilasta koostuneen laidunnurmen pulpperikäsitteilyä seurannut ruuvipuristus lisäsi kasvuston ka-pitoisuutta vain 21 % (Bryant ym. 1983). Erot kiintojakeiden ka-pitoisuuksissa selittyvät luultavasti suurelta osin fraktiointilaitteiden teknisistä eroista (Franco ym. 2019).

Kokeessa I kiintojakeen kohonnut ka-pitoisuus luultavasti lisäsi nieltyjen kiintojaepartikkelien kiinnittymistä suurten partikkelien faasiin pötsissä. Tämän seurauksena kiintojaepartikkeleiden sulatus ja valikoiva viipyminen mahdollisesti tehostuivat käsittelemättömään säilörehuun verrattuna. Ruohon kuitupitoisuuden noustessa suurten,

pitkänomaisten ja joustavien partikkelien osuuden on havaittu lisääntyvän, mikä hidastaa ruohon virtausnopeutta pötsin läpi (Mertens ja Huhtanen 2007). Fraktioinnin vaikutuksesta kiintojakeen partikkelien rakenne kuitenkin muuttui irtonaisemmaksi ja niiden mikrobisulatukselle altis pinta-ala lisääntyi. Tämän seurauksena sulatusnopeus saattoi lisääntyä, mikä saattoi kompensoida kuitupitoisuuden lisääntymisestä aiheutuvaa virtausnopeuden hidastumista ja edelleen syönnin ja sulatuksen vähenemistä (Rinne ym. 2002, Kuoppala ym. 2008). Syönti-indeksin (Huhtanen ym. 2008a) mukaan kuiva-ainepitoisuuden lisääntymisellä on myös itsenäinen vaikutus syönnin lisääntymiseen.

Damborgin ym. (2019a) kokeessa raiheinää ja puna- sekä valkoapilaa (ruohon ja apilan suhde 45:55) sisältäneen säilörehun ka-pitoisuus oli 39 % korkeampi kuin säilörehun kiintojakeen. Tämä johtui fraktioitavan koerehun korjaamisesta sateella ja varhaisemmalla kehitystasolla. Sääolosuhteiden on todettu vaikuttavan fraktioinnin tulokseen (Houseman ym. 1976). Fraktioinnissa käytetty laitteisto ja sen teho saattavat myös selittää em. kokeiden fraktiointitulosten eroa (Houseman ym. 1976, Franco ym. 2019). Damborgin ym. (2019a) kokeessa käytettiin teollisuusmittakaavan fraktiointilaitteistoa, ja kokeessa I tilamittakaavan kaksoisruuvipuristinta ja Bryantin ym. (1982) kokeessa pulpperikäsittelyn jälkeen vain yhdestä ruuvista koostuvaa puristinta. Ilman epäsuotuisan korjuusään vaikutusta teollisuusmittakaavan fraktiointilaitteisto olisi luultavasti tuottanut kuiva-ainepitoisempaa kiintojakeita Damborgin ym. (2019a) kokeessa kuin tilamittakaavan laite kokeessa I.

Fraktioinnin on todettu lisäävän kiintojakeen NDF-pitoisuutta käsittelemättömään säilörehuun verrattuna liukoisten ainesosien poistumisen vuoksi (Bryant ym. 1983, Rinne ym. 2018c, Damborg ym. 2018, 2019a). Kokeessa I kiintojakeen NDF-pitoisuus nousi fraktioinnin seurauksena 20 %. Damborgin ym. (2019a) kokeessa kiintojakeen NDF-pitoisuus oli vain 12 % korkeampi kuin fraktioimattoman säilörehun. Syynä tähän oli ilmeisesti fraktioidun säilörehun viikkoa myöhäisempi korjuu, sillä myös kasvuaste vaikuttaa jakeiden kemialliseen koostumukseen (Houseman ym. 1976). Bryantin ym. (1983) kokeessa käsitellyn laidunnurmen kuitupitoisuus lisääntyi 17 %.



Kuva 4. Fraktioinnin vaikutus säilörehun kiinto- ja nestejakeen kemialliseen koostumukseen kokeessa I.

Säilörehun rv-pitoisuus laskee fraktioinnin seurauksena jonkin verran, mutta myös kiintojakeeseen jää merkittävästi rv:ta. Kokeessa I kiintojakeen rv-pitoisuus oli 26 % matalampi kuin säilörehun rv-pitoisuus. Keskimäärin tilatason fraktiointiteknikalla nesteeseen on pidättynyt 35 % säilörehun rv:sta (Franco ym. 2019). Damborgin ym. (2018) kokeessa fraktioitujen valkoapila-, sinimailas- ja englanninraiheinäkasvustojen rv-pitoisuudessa ei ollut eroa käsittelemättömään kasvustoon verrattuna. Tämä poikkeaa muista tuloksista, sillä eri fraktiointitekniikoilla erotetun kiintojakeen rv-pitoisuus on ollut poikkeuksetta käsittelemätöntä säilörehua matalampi (Franco ym. 2019). Osasyynä Damborgin ym. (2018) havaintoon on saattanut olla fraktioitujen kasvilajien sisältämän rv:n korkea kuituun sitoutunut osuus. Myös Bryantin ym. (1983) kokeessa fraktiointi alensi laidunnurmen rv-pitoisuutta huomattavasti eli 30 %. Damborgin ym. (2019a) kokeessa viikkoa aikaisemmin korjatusta nurmesta erotetun kiintojakeen rv-pitoisuus oli sen sijaan 10 % korkeampi kuin käsitellyn säilörehun. Syynä tähän oli ilmeisesti fraktioitun säilörehun viikkoa myöhäisempi korjuu. Pijmannin ym. (2018) kokeessa käsittelemättömän säilörehun rv-pitoisuus oli 9,5 % korkeampi kuin kiintojakeen.

Rehun mekaanisten käsittelymenetelmien maseroinnin ja repimisen vaikutukset rehun kemialliseen koostumukseen ovat vähäiset (Hintz ym. 1999, Weisbjerg ym. 2018). Nämä käsittelyt vaikuttavat lähes yksinomaan rehun fysikaaliseen olomuotoon.

MCC:n selluloosa- ja NDF-pitoisuudet olivat hyvin korkeat ja tuhka- ja valkuaispitoisuudet matalat. *In vitro* -sellulaasisulavuus oli matala, mikä vuoksi MCC:n rehuarvot olivat matalat.

5.2 SYÖNTI

Pötsin täyteisyys on yksi keskeisiä syöntiä rajoittavia fysikaalisia syönninsäätelytekijöitä (Van Soest 1994). Syödyn rehun aineosista iNDF:n on havaittu lisäävän pötsin täyteisyyttä eniten (Gasa ym. 1991). Kokeessa I dieetin kiintojakeen osuuden lisääntyessä myös sen iNDF-pitoisuus lisääntyi ja sekä ka:n että vr:n syönti muuttui käyräviivaisesti (taulukko 2). Kiintojakeen osuuden noustessa neljäsosaan karkearehuannoksesta, ka:n syönti lisääntyi keskimäärin yhden kilon. Kun karkearehuannoksesta puolet korvattiin kiintojakeella, lehmät eivät enää lisänneet ka:n syöntiä kontrolliruokintaan verrattuna. MCC korvasi dieeteissä ohraa, joten sen osuuden lisääntyessä myös NDF:n saanti lisääntyi. Huolimatta dieetin NDF-pitoisuuden noususta MCC:n osuuden lisääntyessä ka:n ja säilörehun syönti lisääntyivät numeerisesti, mutta eivät tilastollisesti merkitsevästi (taulukko 2).

Nurmisäilörehun iNDF-pitoisuuden ollessa matala lehmät voivat syödä paljon ja rehun sulatusnopeus voi olla korkea (Mertens ja Huhtanen 2007). Kokeessa I ka:n syönti kuitenkin lisääntyi dieetin iNDF-pitoisuuden lisääntymisestä huolimatta, kun kiintojakee korvasi neljäsosan karkearehuannoksesta. Tämä johtui mahdollisesti rehupartikkeleiden fysikaalisen olomuodon muuttumisesta ja sulavuuden tehostumisesta fraktioiden mekaanisen käsittelyn seurauksena. Myös muiden mekaanisten käsittelyjen kuten maseroinnin (Hintz ym. 1999) ja repimisen (Weisjberg ym. 2018) on havaittu lisäävän kuidun pötsisulavuutta. Syönnin on havaittu lisääntyneen maseroinnin seurauksena lampailla (Hintz ym. 1999), mutta ei lypsylehmillä (Broderick ym. 1999). Mertensin ym. (1991) kokeessa maserointi jopa vähensi lehmien sinimaillassäilörehun syöntiä, mikä johtui heidän mukaansa käsitellyn rehun tehokkaammasta hyväksikäytöstä. Tähän todennäköisesti vaikutti juuri mikrobisulatuksen lisääntyminen karkearehun kuiturakenteen avautumisen seurauksena.

Kun karkearehuannoksesta puolet korvattiin kiintojakeella kokeessa I, lehmät eivät enää lisänneet ka:n syöntiä kontrolliruokintaan verrattuna. Voidaan olettaa, että tällä koeruokinnalla kiintojakeen pitkänomaiset, suurehkot partikkelit lisäsivät pötsiin suurten partikkelien määrää niin paljon (Wattiaux ym. 1993) että pötsin täyteisyys rajoitti syöntiä.

Rehupartikkelien muuttuminen pötsisulatukselle alttiimmiksi käsittelemättömään säilörehuun verrattuna ei riittänyt enää tehostamaan sulatusta ja lisäämään partikkelien virtausta ulos pötsistä uusien tieltä. Pijmanin ym. (2018) kokeessa lehmät söivät käsittelemätöntä kontrollisäilörehua enemmän kuin viikkoa aikaisemmin tai kaksi viikkoa myöhemmin korjattua ja fraktioitua kiintojaetta. Pijmanin ym. (2018) kokeessa käytettyjen rehujen kemiallista koostumusta ei dokumentoitu typpi- ja fosforipitoisuuksia lukuun ottamatta. Tässä tutkimuksessa kiintojakeen määrä dieetissä oli kuitenkin rajoitettu vain 8 kg ka/pv ja kumpikin koeryhmä sai yhteensä karkearehua 13 kg ka/pv.

Damborgin ym. (2019a) kokeessa apilaa ja raiheinää sisältänyt kontrollisäilörehu korjattiin sääolosuhteiden vuoksi viikkoa myöhemmin kuin fraktioitu koesäilörehu. Syönnissä ei ollut eroa ryhmien välillä, sillä kiintojakeen NDF-pitoisuus oli vain noin 60 g/kg ka korkeampi kuin kontrollisäilörehun (472 g/kg ka vs. 417 g/kg ka) ja sen oa:n sulavuus oli vain 1,6 prosenttiyksikköä matalampi kuin kontrollisäilörehun. Kokeessa I kiintojaetta sisältävien koeruokintojen NDF-pitoisuuksien ero käsittelemättömään säilörehuun verrattuna oli vain noin 23 g/kg ka, mutta kiintojakeen NDF-pitoisuus oli 120 g/kg ka korkeampi kuin fraktioimattoman koesäilörehun NDF-pitoisuus. Damborgin ym. (2019a) kokeessa kontrollisäilörehun NDF-pitoisuutta nosti luultavasti viikkoa myöhäisempi korjuuajankohta, sillä nurmikasvien NDF-pitoisuuden nousu kasvuajan edetessä on yksi keskeisistä nurmikasvin kemiallisen koostumuksen muutoksista (Rinne ym. 1997, 1999, Kuoppala ym. 2008). Todennäköisesti myös Damborgin ym. (2019a) kokeessa lehmät pystyivät syömään kuitupitoisempaa koerehua fraktioinnin aiheuttaman rehupartikkelien mekaanisen, sulavuutta tehostavan vaikutuksen seurauksena lähes yhtä paljon kuin kontrollisäilörehua.

Kokeessa II pötsin täyteisyys ei oletettavasti rajoittanut syöntiä toisin kuin kokeessa I. Dieetin iNDF-pitoisuus vaikuttaa pötsin kuitupoolien kokoon (Rinne ym. 2002) ja iNDF:n on havaittu lisäävän pötsin täyteisyyttä (Gasa ym. 1991), mutta MCC ei sisältänyt lainkaan iNDF:ää. Lisäksi MCC:n osuus dieetistä oli suhteellisen pieni kiintojakeeseen verrattuna, joten numeerisesti suuremmat ka:n syönnit MCC-ruokinnoilla kontrolliruokintaan verrattuna saattoivat olla seurausta MCC:n pienen partikkelikoon aiheuttamasta lisääntyneestä mikrobisulatukselle alttiista pinta-alasta ja sen seurauksena tehostuneesta sulatuksesta. MCC:n pieni partikkelikoko on myös voinut nopeuttaa partikkelien virtausta pötsistä ja vähentää näin pötsin täyteisyyttä. Partikkelien lisääntynyt pinta-ala kasvin rakenteen rikkoutumisen seurauksena lisäsi luultavasti syöntiä myös kiintojaeruokinnalla.

Pulpperikäsittely ja sitä seurannut ruuvipuristus sen sijaan vähensivät raiheinää ja valkoapilaa sisältäneen laidunnurmen syöntiä 8 % käsittelemättömään laidunnurmeen verrattuna (Bryant ym. 1983). Tässä kokeessa rehun fysikaalisen olomuodon muutosta pidettiin yhtenä syynä syönnin alenemiseen toisin kuin muissa nurmirehun mekaanisen käsittelyn vaikutuksia tutkineissa kokeissa. Muita syitä ka:n syönnin vähenemiseen mekaanisten käsittelyjen seurauksena olivat Bryantin ym. (1983) mukaan rehun ravintoarvon muutos, rehun pilaantuminen ja lämpeneminen sekä lannan tai mullan pääsy käsiteltyyn rehuun sen syöttövaiheessa. Kokeessa I kiintojakeeseen sekoitettiin heti fraktioinnin jälkeen happoa, jolla rehun lämpeneminen estettiin.

Taulukko 2. Mekaanisesti käsiteltujen nurmirehujen syönti- ja sulavuustuloksia lypsylehmillä.

Kirjallisuus	Karkearehun tyyppi ja käsittely	Kiintojake dieetin ka ¹ :sta	Dieetin NDF ² , g/kg ka	Syönti, kg ka/pv	Sulavuus			
					Kuiva-aine	Orgaaninen aine	Raakavalkuainen	NDF
Koe I	Nurmisäilörehu	0	418	24,4	0,706/0,676 ³	0,723/0,694 ³	0,711/0,682 ³	0,623/0,584 ³
	-“-, kaksoisruuvipuristus	0,125	437	25,4	0,703/0,663 ³	0,72/0,683 ³	0,697/0,657 ³	0,627/0,577 ³
	-“-, kaksoisruuvipuristus	0,25	448	24,1	0,706/0,653 ³	0,723/0,673 ³	0,698/0,643 ³	0,638/0,575 ³
Damborg ym. (2019)	Raiheinää ja apilaa sisältävä säilörehu	0	290	23,3	0,693	0,720	0,651	0,567
	” kaksoisruuvipuristus	1,0	324	23,7	0,713	0,738	0,68	0,627
Pijman ym. (2018)	Nurmisäilörehu	0		21,5				
	-“- ruuvipuristus	0,62		20				
Bryant ym. (1983)	Raiheinää ja apilaa sisältävä laidunnurmi	0	295	13	0,750	0,762	0,64	
	-“- pulpperikäsittely ja ruuvipuristus	1,0	344	12,7	0,697	0,713	0,628	
	Sinimailas-kasvusto	0	338	13,1	0,593	0,596	0,720	
	-“- pulpperikäsittely ja ruuvipuristus	1,0	401	12,3	0,548	0,550	0,661	
Weisbjerg ym. (2018)	Raiheinää ja apilaa sisältävä säilörehu	0	299	14,3	0,705	0,733	0,710	
	-“- repimiskäsittely	1,0	307	15,2	0,713	0,741	0,717	
Broderick ym. (1999a)	Sinimailassäilörehu	0,61	432	26,8				
	-“- maseroitu	0,60	488	27,4				
	Sinimailassäilörehu	0,51		26,8				
Broderick ym. (1999b)	Sinimailassäilörehu	0	432		0,600	0,619	0,530	0,442
	-“- maseroitu	0,72	432		0,611	0,638	0,544	0,450
Mertens & Koegel (1996)	Sinimailassäilörehu	0	269	21,1				
	-“- maseroitu	0,60	282	20,3				

¹ ka = kuiva-aine (Kokeessa I kiintojakeen osuudet dieetin karkearehuannoksesta 0, 0,25 ja 0,50) ² NDF = neutraalidetergenttikuitu ³ Merkkiaineina käytetty happoon liukenematonta tuhkaa (AIA) ja sulamatonta NDF:ää (iNDF)

5.3 PÖTSIFERMENTAATIO

Dieetin kuitupitoisuus ja kuidun ominaisuudet vaikuttavat märehtimiseen ja pötsifermentaatioon (Van Soest 1994). Pitkien kuitupartikkelien on todettu stimuloivan märehtimistä (Wattiaux ym. 1993) ja oletettavasti myös VFA:n tuotantoa. Tässä työssä tutkitut kuitupitoiset uusrehut eivät vaikuttaneet pötsin pH:n tai ammoniakkin pitoisuuteen eikä tuotettujen VFA:n kokonaismäärään (taulukot 3 ja 4).

Oletettavasti fraktiointi kokeessa I vaikutti rehupartikkelien fysikaaliseen rakenteeseen siten, että märehtimisen aiheuttamaa hienonnusta tarvittiin kuidun sulatuksessa vähemmän kuin kontrollidieetillä. Tämä ei todennäköisesti kuitenkaan vaikuttanut syljen eritykseen, sillä pötsin pH-arvoissa ei ollut eroa dieettien välillä. Maseroitua nurmirehua tutkineissa kokeissa (Hintz ym. 1999) mekaaninen käsittely oletettavasti rikkoi kasvin rakennetta fraktiointia enemmän. Maserointi lyhensi kokonaissyönti- ja märehtimisaikoja sekä kokonaisuudessaan pureskeluun käytettyä aikaa (Mertens ja Koegel 1996) ja oletettavasti vähensi myös havaittua syljen eritystä. Vähentynyt ka:n syönti sekä maseroidun rehun pienempi NDF-pitoisuus selittävät kuitenkin osan pureskeluajan lyhenemisestä. Repimiskäsittely vähensi myös syöntiin ja pureskeluun kuluvaan aikaa, mutta lisäsi märehtimisaikaa trendinomaisesti. Tästä huolimatta sillä ei ollut vaikutusta pötsin happamuuteen (Weisbjerg ym. 2018).

Korkea etikkahappopitoisuus on liitetty dieetin NDF-pitoisuuden nousuun (Rinne ym. 2002). Kokeessa I kiintojakeen osuuden ollessa puolet karkearehuannoksesta etikkahapon osuus tuotetuista VFA:sta lisääntyi, mikä oli osoitus dieetin suhteellisen korkeasta NDF-pitoisuudesta. Fraktiointi tehosti kuidun sulavuutta luultavasti kuitenkin niin paljon, että pötsin haihtuvien rasvahappojen välisissä suhteissa ei ollut havaittavissa lisääntyneen dieetin kuitupitoisuuden normaalisti aiheuttamaa etikka- ja voihiapon pitoisuuden nousua suhteessa propionihapon pitoisuuteen.

Maseroinin vaikutuksesta etikkahapon osuus tuotetun VFA:n kokonaismäärästä väheni ja propionihapon osuus lisääntyi, samoin etikka- ja propionihapon välinen suhde nousi (Hintz ym. 1999). Hintzin ym. (1999) mukaan pötsifermentaation muuttumiseen ei vaikuttanutkaan kuidun fysikaalisen tehokkuuden muuttuminen maseroinnin seurauksena vaan pötsikinetiikan muutokset. VFA:n suhteiden muuttumisen perusteella maserointi muuttaa kuidun fysikaalista olomuotoa tehokkaammin kuin fraktiointi kokeessa I. Repimiskäsittelyn seurauksena VFA:n osuuksissa tai keskinäisissä suhteissa ei ollut eroja (Weisbjerg ym.

2018). MCC:n lisääminen dieettiin ei vaikuttanut VFA:n keskinäisiin suhteisiin. Propionihapon osuus nousi valkaisuamattoman havupuusellun osuuden lisääntyessä (Millett ym. 1973) vaikka sen ka:n sulavuus oli pienempi kuin MCC:llä. Myöskään happokäsittelyn puuaineksen (Butterbaugh ja Johnson 1974) tai valkaisuamattoman havupuusellun (Millett ym. 1973) lisääminen sonnien dieettiin ei vaikuttanut muodostuneen VFA:n kokonaisuuteen.

Tätkkelyspitoisen ohran korvaamisen sulavaa kuitua sisältävällä MCC:llä kokeessa II oletettiin tasaavan pötsin pH:ta ja sen vaihtelua ja ehkäisevän siten ruoansulatuskanavan sairauksia kuten piilevää hapanta pötsiä. Väkirehun korkeista käyttömääristä ja liian suurista kerta-annoksista aiheutuva piilevä hapanta pötsi on yleinen korkeatuottoisten lehmien ongelma (Krause ja Oetzel 2006). Mikrokiteisen selluloosan sisällyttäminen dieettiin ei vaikuttanut pötsin olosuhteisiin. Myöskään puupohjaisen materiaalin lisääminen märehtijöiden dieettiin Milletin ym. (1983) kokeessa ei ole vaikuttanut pötsin pH-arvoon. Kokeiden I ja II tulosten perusteella voidaan olettaa, että rehuannoksen NDF-pitoisuus ei yksin vaikuta pötsin happamuuteen. Myös kuidun fysikaalisilla ominaisuuksilla on keskeinen vaikutus pötsin olosuhteisiin ja sen toimintaan. Mikrokiteinen selluloosa ei oletettavasti pienen partikkelikokonsa vuoksi stimuloinut pureskelua, märehtimistä eikä neutraloivan syljen eritystä (Wattiaux ym. 1993).

Käytetyt ruokintaratkaisut kokeessa II edistivät pötsiolosuhteiden vakautta. Seosrehuruokinta sekä suhteellisen pieni väkirehun osuus ka:n syönnistä (0,50) saattoivat estää pötsin pH:n laskun ja tasoittaa sen vaihteluita riippumatta rehuannoksen NDF-pitoisuuden lisääntymisestä. Myöskään pötsin haihtuvien rasvahappojen kokonaisuudessa ja eri rasvahappojen osuuksissa ei ollut eroja koedieettien välillä. Happokäsittelyn puun käyttö sonnien ruokinnassa nosti pötsin ammoniakkipitoisuutta (Butterbaugh ja Johnson 1974). Tämä saattoi johtua pötsimikrobien vähentyneestä energian saannista, sillä tutkitun puumateriaalin sulavuus oli pieni (0,48).

Tutkituilla kuitupitoisilla uusrehuilla ei ollut vaikutusta pötsin ammoniakkipitoisuuteen. Se oli korkeampi kokeessa I huolimatta siitä, että dieettien rv-pitoisuudet olivat lähes yhtä suuret (koe I 173, koe II 169 g/kg ka). Kiintojakeen lisääminen dieettiin alensi PVT:a mikä saattoi olla syynä korkeampaan pötsin ammoniakkipitoisuuteen kokeessa I kokeeseen II verrattuna. Molemmissa kokeissa pötsin ammoniakkipitoisuus oli selvästi yli optimaalisen kuidun sulavuuden vaatiman vähimmäisarvon (4,7 mmol/l) (Hoover 1986). Säilörehun repimiskäsittelyn seurauksena pötsin ammoniakkipitoisuus laski huolimatta lisääntyneestä

säilörehun rv:n pötsihajoavuudesta. Repiminen lisäsi kuitenkin myös oa:n pötsisulavuutta (Weisbergin ym. 2018), jolloin pötsimikrobeilla oli todennäköisesti enemmän energiaa käytettävissä ammoniakin sitomiseen mikrobimassaan (Van Soest 1994). Fraktiointi ei ilmeisesti vaikuttanut rehupartikkelien fysikaaliseen olomuotoon ja rv:n pötsisulavuuteen yhtä paljon kuin repimiskäsittely, sillä kokeessa I rv:n sulavuus väheni kiintojakeen osuuden lisääntyessä dieetissä. Kuitufraktioon sitoutuneen rv sulavuus saattoi myös olla hieman matalampi kuin käsittelemättömän säilörehun rv:n sulavuus.

Taulukko 3. Mekaanisesti käsiteltyjen nurmirehujen vaikutus pötsin olosuhteisiin ja haihtuvien rasvahappojen muodostumiseen lypsylehmillä.

Kirjallisuus	Karkearehun tyyppi ja käsittely	Kiintojakee dieetin ka ¹ :sta	Dieetin NDF ² , g/kg ka	pH	Ammoniakki	VFA ³ , mmol/l	VFA:n osuudet			Etikkah./prop.h.
							Etikkahappo	Propionihappo	Voihappo	
Koe I	Nurmisäilörehu, kaksoisruuvipuristus	0	418	6,09	7,67	133,5	0,659	0,178	0,125	3,71
	-"	0,25	448	6,12	6,02	136,1	0,667	0,180	0,119	3,69
Weisbjerg ym. (2018)	Raiheinää ja apilaa sisältävä säilörehu	0	299	6,70	13,8	104,4	0,65	0,198		3,28
	-"- repimiskäsittely	1,0	307	6,71	12,1	98,6	0,644	0,205		3,14
Broderick ym. (1999a)	Sinimailassäilörehu	0,61	432	6,04		143,5	0,619	0,217	0,113	2,88
	-"- maserointi	0,60	488	5,96		144,6	0,612	0,231	0,111	2,68
	Sinimailassäilörehu	0,51		6,1		141,0	0,614	0,221	0,117	2,82
Mertens & Koegel (1996)	Sinimailassäilörehu	0,60	269	5,79		123				
	-"- maserointi	0,60	282	5,82		120				

¹ ka = kuiva-aine (Kokeessa I kiintojakeen osuudet dieetin karkearehusta 0 ja 0,50)

² NDF = neutraalidetergenttikuitu

³ VFA = haihtuvat rasvahapot

Taulukko 4. Puupohjaisten rehumateriaalien koostumus ja vaikutukset pötsin olosuhteisiin ja haihtuvien rasvahappojen muodostumiseen.

Kirjallisuus	Puupohjainen rehumateriaali	Osuus dieetissä	Koostumus, g/kg ka				VFA:n osuudet						
			Selluloosa	Ligniini	Kok. hiilihydraatit	pH	Ammoniakki	VFA ⁴ (mmol/l)	Etikkahappo	Propionihappo	Voihappo	Etikkah+voih/pro.happo	Etikkahappo/prop.happo
Koe II	Mikrokiteinen selluloosa, lypsylehmä		870	23									
		0				6,22	3,84 ¹	126,9	0,633	0,191	0,136	4,10	4,67
		0,01				6,17	3,91	127,9	0,628	0,191	0,132	4,01	4,77
		0,1				6,28	5,11	127,7	0,630	0,189	0,135	4,08	4,69
Butterbaugh & Johnson (1974)	Puumateriaali (Lehtipuu 0,80 havupuu 0,20) Käsittely vahvalla (0.23) rikkihapolla sonni		110	600									
		0					74,5 ²	57,7	0,75	0,17	0,057	4,93	11,4
		0,20					141,2	50,3	0,75	0,15	0,071	4,46	10,2
		0,30					187,2	50,7	0,74	0,15	0,077	5,86	10,2
Millett ym. (1973)	Valkaisematon havupuusellu sonni			220	750								
		0				6,4	23,9 ³	43,6	0,662	0,170	0,146		3,9
		0,20				6,6	24,4	63,1	0,667	0,208	0,092		3,2
		0,35				6,5	16,7	45,1	0,618	0,247	0,011		2,9
		0,50				6,6	19,5	83,2	0,646	0,235	0,094		2,8

¹mmol/l

²µg/ml

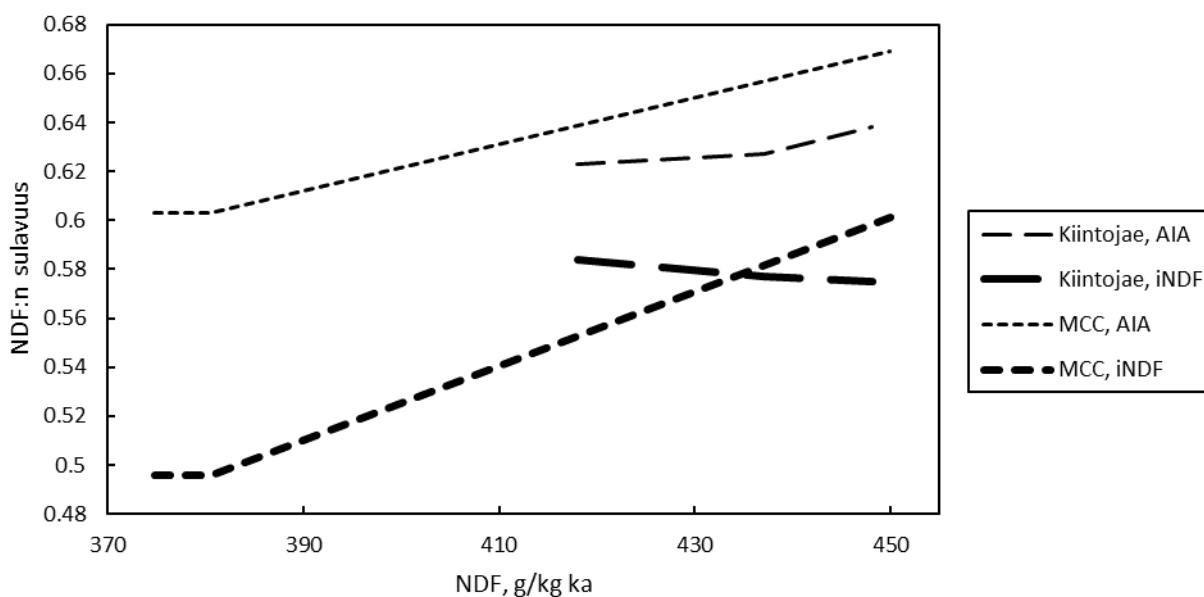
³mg/ml

⁴VFA = haihtuvat rasvahapot

5.4 SULAVUUS

Dieetin NDF-pitoisuuden lisääntyminen aiheuttaa yleensä sulavuuden heikkenemisen (Mertens ja Huhtanen 2007). Tässä työssä tutkittujen kuitupitoisten uusrehujen käyttäminen osana lypsylehmien dieettiä ei heikentänyt ka:n tai oa:n sulavuutta huolimatta dieettien lisääntyneistä NDF-pitoisuuksista (taulukko 2). Dieettien NDF-pitoisuuksien lisääntyessä NDF:n sulavuus jopa parani (kuva 5). Kokeissa I ja II *in vivo* -sulavuuden määrittämiseen käytettiin merkkiaineina sekä AIA:ta että iNDF:ää. Kokeessa I iNDF-merkkiaineella määritettyjen ka:n ja oa:n sulavuus kuitenkin huononi. Kokeessa I AIA-merkkiaineella määritetty NDF:n sulavuus lisääntyi suuntaa-antavasti kiintojakeen osuuden lisääntyessä ja kokeessa II MCC:n osuuden lisääntymien dieetissä lisäsi NDF:n sulavuutta kummallakin merkkiaineella määritettynä (taulukko 5).

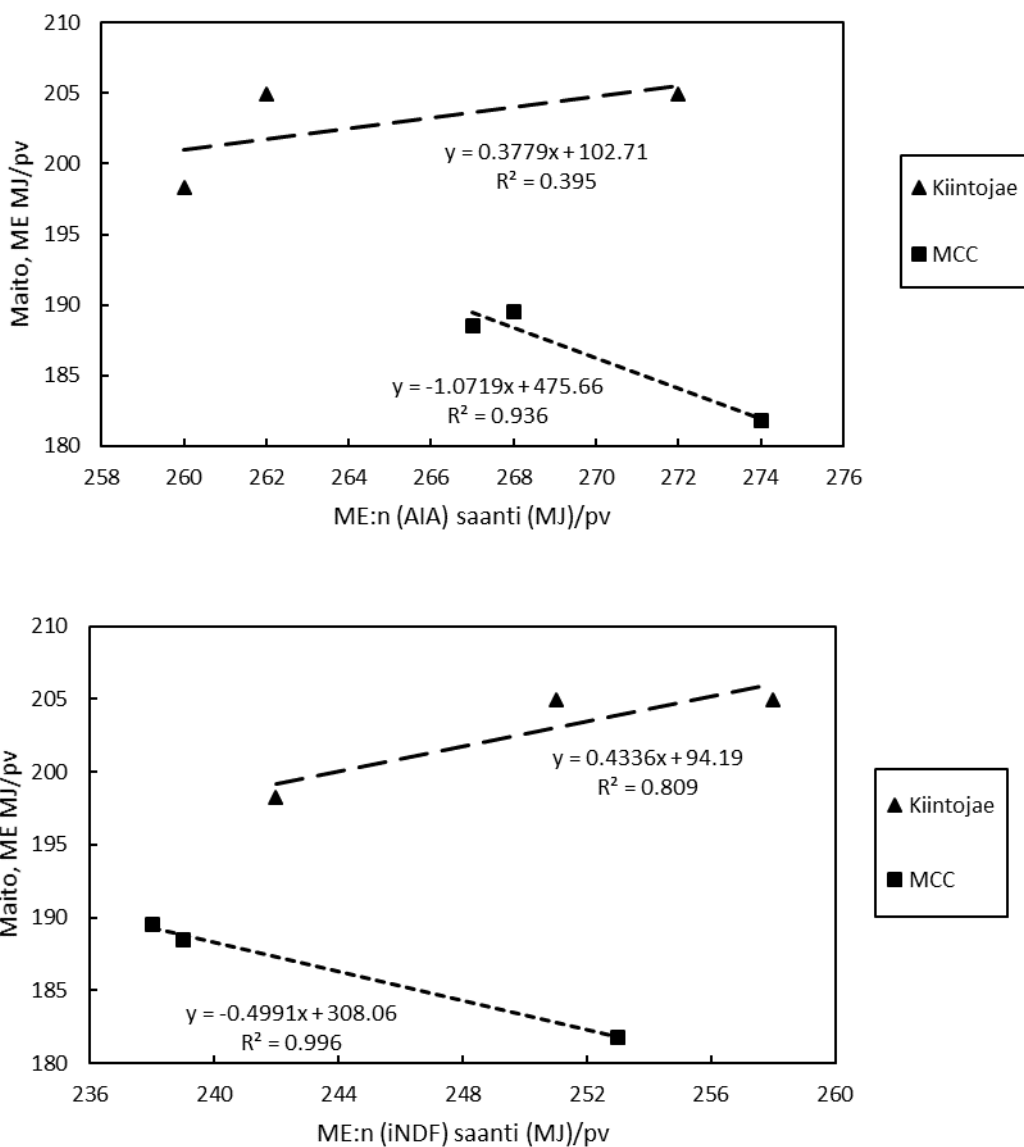
Kuva 5. Säilörehun kiintojakeen ja mikrokiteisen selluloosan (MCC) vaikutus neutraalidetergenttikuidun (NDF)



sulavuuteen kokeessa II, kun sulavuuden merkkiaineina käytettiin happoon liukenematonta tuhkaa (AIA) ja sulamatonta NDF:a (iNDF).

In vivo -sulavuuden määrittämisessä käytettyjen merkkiaineiden AIA:n ja iNDF:n käyttöön liittyy ongelmia. Happoon liukenemattoman tuhkan (AIA) pieni pitoisuus rehuissa altistaa sen käytön analyysivirheille samoin kuin maa-aineksen pääsy rehunäytteeseen (Huhtanen ym. 1994). Nailonpussimenetelmällä määritettäessä partikkelien häviäminen ja siten niiden

epätäydellinen saanto on luultavasti syynä siihen, että kokeissa I ja II iNDF-merkkiaineella määritetyt sulavuudet olivat pienemmät kuin AIA-merkkiaineella määritetyt. Merkkiaineen pääasiallinen tehtävä on kuitenkin havaita mahdolliset erot eri koedieettien välillä. Kokeessa I selityssasteet ME:n saannin ja maidon ME-tuotoksen välillä AIA- ja iNDF-merkkiaineilla määritettäessä olivat 0,40 ja 0,81. Kuiva-aineen ja oa:n sulavuudet olivat iNDF:llä määritettynä numeerisesti pienempiä kuin AIA:lla, mutta iNDF-tulosten korrelaatio maidon ME-tuotukseen oli korkeampi. Kokeessa II vastaavat negatiiviset korrelaatiot olivat 0.94 ja 1,0 (kuva 6).



Kuva 6. Muuntokelpoisen energian (ME) (määritetty käyttäen merkkiaineena happoon liukenematonta tuhkaa (AIA) ja sulamatonta NDF:ää (iNDF)) saannin ja maidon ME:n yhteys kokeissa I ja II.

Karkearehun oa:n sulavuus määritettiin myös *in vitro* -pepsiinisellulaasimenetelmällä, joka on pääasiassa märehitjoiden karkearehujen sulavuuden määrittämiseen tarkoitettu menetelmä (Nousiainen ym. 2003, Huhtanen ym. 2006a). Säilörehun (0,725) ja kiintojakeen (0,696) arvoihin verrattuna MCC:n *in vitro* orgaanisen aineen (oa) sulavuus oli huomattavasti matalampi (0,404). Nämä tulokset eivät kuitenkaan ole suoraan vertailukelpoisia, sillä nurmisäilörehujen koostumuksesta noin puolet on kuitua, mutta toinen puoli kokonaan määrittäksessä liukenevia solunsisällysaineita. MCC sen sijaan koostuu lähes yksinomaan kuidusta. Jos karkearehun solunsisällysaineiden täydellinen sulavuus otetaan huomioon, tulee säilörehujen NDF:n *in vitro* -sulavuudeksi noin 0,5 (Huhtanen ym. 2006a). Tähän tulokseen verrattuna MCC:n voidaan todeta olevan melko hyvin sulavaa. Tämä on myös se syy, miksi eri karkearehutyypeille tarvitaan omat korjauskertoimet, kun sellulaasiliukoisuudesta lasketaan *in vivo* -sulavuus (Huhtanen ym. 2006a). Karkearehujen sulavuuden määrittämisessä *in vitro* -menetelmäkään ei ole ongelmaton, sillä sen avulla ei voida simuloida pötsin kokonaisvaltaista kuidunsulatusta, jossa pötsin seinämien lihassupistusten aiheuttama nesteen ja partikkelien kierto on keskeinen tekijä.

Kiintojake ja MCC ovat hyvin erilaisia kuitukomponentteja. Kiintojakeen partikkelit ovat pitkiä ja keveitä. Tällaiset partikkelit pystyvät muodostamaan pötsissä suurten partikkelien massan, joka mm. stimuloi märehitimistä (Wattiaux ym. 1993) ja tehokasta fermentoitumista (Martineau ym. 2006). Sen sijaan MCC:n partikkelit ovat hyvin pieniä ja oletettavasti tiheitä verrattuna säilörehupartikkeleihin. Tällaiset partikkelit eivät edistä märehitimistä ja pötsisulatusta yhtä tehokkaasti kuin suuret ja pitkät partikkelit (Wattiaux ym. 1993).

Huolimatta MCC:n tiiviistä kiderakenteesta sitä sisältävien dieettien ka:n ja oa:n sulavuudet paranivat NDF-pitoisuuden lisääntyessä. Pieni partikkelikoko oletettavasti lisäsi pinta-alaa mikrobien kiinnittymiselle siitä huolimatta, että selluloosapolymeeriketjujen keskinäisten vahvojen vetysidosten vuoksi vain mikrofibrillin pinta oli alttiina mikrobisulatukselle (Kerley ym. 1988). Mikrobien kiinnittymispinta-alan lisääntyminen tehosti ja nopeutti todennäköisesti myös kiintojakeen pötsisulatusta (Broderick ym. 1999, Hitz ym. 1999). Oletettavasti kokeessa I fraktioinnin aiheuttaman pötsisulatuksen tehostumisen vuoksi ka:n, oa:n ja NDF:n sulavuudet eivät laskeneet kiintojakeen osuuden lisääntymisestä huolimatta.

Kiinnittyessään suurten partikkelien muodostamaan massaan pienet MCC-partikkelit saattoivat pysyä pötsissä useiden märehitimiskierrosten ajan (Mertens ja Huhtanen 2007), mikä saattoi tehostaa niiden pötsisulatusta. *In vitro* -kaasuntuotantomäärittysten mukaan MCC oli hyvin käyttökelpoista mikrobeille (Stefanski ym. 2018). MCC:n sulavuuden

määrittäminen kuidun saannin ja sulaneen kuidun saannin erotuksena käyttäen merkkiaineina AIA:ta ja iNDF:ää osoittaa, että MCC:n sisältämä NDF sulii lähes täydellisesti (0,96 ja 1,06). *In vitro*-sulavuustulosten mukaan runsas VFA:n tuotanto saattoi nostaa MCC-partikkeleita pötsin pinnalle kiintojaefaasiin hidastaen niiden ulosvirtausta pötsistä.

Ligniini ympäröi kasvin soluseinissä hemiselluloosaa ja selluloosaa ja sen poistamisen on havaittu parantavan kuidun sulavuutta (Van Soest 1994). Vaikka fraktiointi lisäsi kiintojakeen ligniinipitoisuutta, sen seurauksena ligniinin solunsisällysaineita suojaava vaikutus heikkeni merkittävästi fraktioinnin aiheuttaneen mekaanisen käsittelyn vuoksi. Ligniinin poistaminen myös MCC:n valmistusprosessissa paransi MCC:n sulavuutta huomattavasti verrattuna käsittelemättömään puukuituun.

Nurmikasvien kasvuasteen edetessä niiden NDF-pitoisuus lisääntyy vastaavasti kuin dieettien I ja II NDF-pitoisuudet lisääntyivät kuitupitoisten uusrehujen osuuden lisääntyessä. Kasvin sulavuuden heikkeneminen kasvuasteen edetessä johtuu kuitenkin lisääntyneestä ligniinipitoisuudesta (Jung 1989). Sen sijaan iNDF-merkkiaineella määritetyn dieetin sulavuuden heikkeneminen kokeessa I kiintojakeen osuuden lisääntyessä ilmenee vain NDF-pitoisuuden lisääntymisenä eikä kuitufraktion laadun heikkenemisenä kuten kasvin kasvuasteen edetessä. Fraktioinnin aiheuttamat rehupartikkelien fysikaalisen olomuodon muutokset saattoivat jopa parantaa kuidun laatua ja sen seurauksena myös kuidun sulavuutta.

Fraktioidun apilaa ja raiheinää sisältäneen säilörehun kiintojakeen NDF:n pötsihajoavuus oli nopeampaa ($0,059 \text{ h}^{-1}$) verrattuna käsittelemättömään säilörehuun ($0,051 \text{ h}^{-1}$) (Damborg ym. 2019) ja ka:n, oa:n, rv:n sekä NDF:n sulavuudet olivat merkitsevästi korkeammat käsittelemättömään säilörehuun perustuvaan ruokintaan verrattuna. Luultavasti fraktioinnin fysikaalisen vaikutuksen lisäksi fraktioidun säilörehun korjaaminen viikkoa aiemmin kuin kontrollisäilörehu on ollut syynä suurempaan sulatusnopeuteen, sillä korjuuajan on todettu vaikuttavan nurmirehun sulatusnopeuteen (Rinne ym. 1997).

Sulavuus vaikuttaa ka:n syöntiin (Huhtanen ym. 2007). On kuitenkin epäselvää, kontrolloiko ka:n syöntiä pötsin täyteisyys, sulatusnopeus (k_p) vai nämä molemmat (Rinne 2000). Tärkeä syöntiin ja sulavuuteen vaikuttava tekijä on rehun viipymäaika pötsissä. Siihen vaikuttavat eläimen fysiologisen tilan lisäksi karkearehun fysikaaliset ominaisuudet (Mertens ja Huhtanen 2007). Poistumiskykyisten rehupartikkeleiden osuus on luultavasti lisääntynyt kokeessa I, sillä näiden fysikaalisesti käsiteltyjen partikkelien ominaispaino on lisääntynyt

nopeammin kuin käsittelemättömien reupartikkeleiden johtuen märehittämisen tehostuneesta vaikutuksesta käsiteltyyn rehuun ja edelleen mikrobisulatuksen tehostumiseen. Tämä on luultavasti lisännyt syöntiä dieetin NDF-pitoisuuden lisääntymisestä huolimatta kokeessa I.

Kokeessa I dieetin rv:n sulavuuden havaittiin heikkenevän NDF-pitoisuuden lisääntyessä. Heikentynyt rv:n sulavuus johtui luultavasti dieetin rv-pitoisuuden laskusta dieetin NDF-pitoisuuden lisääntyessä, eikä NDF-pitoisuuden lisääntymisen vaikutuksesta valkuaisen sulatusprosessiin. Raakavalukuaisella ei ole suoranaista vaikutusta sulavuuteen kuten esimerkiksi NDF:llä ja ligniinillä pötsimikrobien typen tarvetta lukuun ottamatta. Raakavalukuaisen todellinen sulavuus on lähes täydellinen ja endogeenisen ja metabolisen valkuaisen erityis vaikuttaa näennäisen sulavuuden heikkenemiseen enemmän dieeteillä, joiden rv-pitoisuus on vähäinen verrattuna runsaasti valkuaista sisältäviin dieetteihin (Huhtanen ym. 2006a, Rinne ja Franco ym. 2019).

Lisääntyneen NDF:n sulavuuden seurauksena mikrobivalkuaisen virtaus ohutsuoleen lisääntyy, sillä pötsimikrobien energian saanti kasvaa (Mertens ja Huhtanen 2007). NDF:n sulavuus ei kuitenkaan lisääntynyt kokeessa I, mikä on linjassa rv:n sulavuuden heikkenemisen kanssa. Nurmisäilörehun korvaaminen viikkoa aikaisemmin ja kaksi viikkoa myöhemmin korjatulla, fraktioidulla ja säilötyllä kiintojakeella ei vaikuttanut typen erityykseen sonnassa (Pijman ym. 2018). Sen sijaan fosforin erityis sonnassa väheni eli käsittelyllä pystyttiin vähentämään fosforin eritystä. Eroa eri kasvuasteilla olevien fraktioidun ja fraktioimattoman nurmen välillä ei typen ja fosforin erityksessä ehkä havaittu, koska nurmen valkuaispitoisuus laskee hitaasti kasvuasteen edetessä

Kaksoisruuvipuristimella tehdyn fraktioinnin mekaaniset vaikutukset säilörehun sulavuuteen eivät luultavasti ole yhtä tehokkaita kuin muiden karkearehun fysikaalista olomuotoa muuttaneiden käsittelyjen kuten repimisen ja maseroinnin vaikutukset. Repimiskäsittelyn seurauksena oa:n pötsihajoavuus on parantunut (Hintz ym. 1999). Lisääntynyt syönti on johtanut yleensä sulavuuden huononemiseen, mutta säilörehun repimiskäsittelyn vaikutuksesta näin ei kuitenkaan tapahtunut (Weijsbjerg ym. 2018). Tämä osoitti, että pötsisulavuus lisääntyi pötsisulatuksen nopeutumisen eikä hidastuneen virtausnopeuden seurauksena (Weijsbjerg ym. 2018). Tätä tukevat maseroinnin seurauksena havaittu NDF:n nopeutunut sulatus (Hintz ym. 1999) sekä sinimailassäilörehun lisääntynyt oa:n sulavuus mekaanisen maseroinnin seurauksena (Broderick ym. 1983).

Laimea happohydrolyysi MCC:n valmistusmenetelmänä on oletettavasti parantanut puun selluloosan sulavuutta verrattuna muiden märehitijöiden dieetin osana tutkittujen valkaisemattomien sellu- ja paperiteollisuuden sivutuotteiden sulavuuksiin. Millett ym. (1973) määrittivät valkaisemattoman havupuusellun ka:n *in vivo* -sulavuudeksi 0,66 kun sen osuus dieetistä oli 0,2. Tutkitun havupuusellun partikkelikoko oli pieni, minkä vuoksi partikkeleiden ulosvirtaus pötsistä saattoi nopeutua heikentäen dieetin sulavuutta. Sen sijaan MCC:n tiiviin kiderakenteen vuoksi sen partikkelien ominaispaino oli luultavasti muiden tutkittujen puupohjaisten materiaalien ominaispainoja suurempi. Tällöin MCC:n partikkelit oletettavasti pysyivät pötsissä, kunnes niiden fermentoituminen hidastui. Lehtipuusellun selluloosapitoisuuden ollessa 480 g/kg ka laimea happohydrolyysi on johtanut keskimäärin noin 0,40 – 0,50 ka:n ja oa:n sulavuuskertoimiin (Butterbaugh ym. 1974). Ligniini ei luultavasti ollut hydrolysoitunut riittävästi em. kokeessa tutkitun puumateriaalin käsittelyprosessissa, sillä ligniinin irrottaminen selluloosasta on keskeisin puuaineksen sulavuutta parantava tekijä (Millett ym. 1973, Butterbaugh ym. 1974).

Valkaistun lehtipuusellun selluloosapitoisuus oli korkea, 980 g/kg ka, mikä johti korkeaan ka:n sulavuuteen (0,72 g/kg ka) (Millett ym. 1973). Valkaisematonta havupuusellua sisältäneen dieetin ka:n sulavuus oli hieman matalampi (0,66 g/kg ka; Millett ym. 1973) kuin MCC:tä sisältäneen dieetin sulavuus (0,70 g/kg ka, II). Vaikka MCC:n raaka-aine oli valkaisematon havupuusellu, laimea happohydrolyysi-vaihe paransi luultavasti MCC:n sulavuutta. Valkaisemattomien ja muiden suhteellisen laimeilla hapoilla käsiteltyjen paperiteollisuuden sivutuotteiden MCC:tä pienemmät sulavuustulokset eivät ole loogisia puun selluloosan ja MCC:n rakenteen erojen perusteella. Puun selluloosakuiduissa on kristallisen rakenteen lisäksi amorfista ainesosaa, joka on avoimemman rakenteensa vuoksi alttiimpi kemialliselle, biologiselle ja mekaaniselle hajotukselle ja muille käsittelyille. MCC sen sijaan koostuu vain selluloosan kiteisistä, tiukasti pakkautuneista rakenneosista (Vanhatalo 2017). Luultavasti MCC:n pieni partikkelikoko tehosti sen sulavuutta muihin kemiallisiin puujalosteisiin verrattuna.

Taulukko 5. Puupohjaisten materiaalien vaikutus ravintoaineiden sulavuuteen märehitijöillä.

Kirjallisuus	Puupohjainen rehumateriaali	Koostumus, g/kg ka				Sulavuus					Puupohjaisten mat. ka ² :n <i>in vitro</i> -sulavuus		
		Puupohj. materiaalin osuus dieetissä	Selluloosa	Ligniini	Kok. hiilihydraatit	NDF ¹	Kuiva-aine	Orgaaninen aine	Raaka-alkuai- nen	Hiili- hydraatit		NDF	Selluloosa
Koe II	Mikrokiteinen selluloosa <i>In vivo</i> -sulavuus, lypsylehmä		870	23									0,404 ³
	“-“	0				375	0,701/ 0,617 ²	0,721/ 0,643 ²	0,678/ 0,587 ²		0,603/ 0,496 ²		
	“-“	0,1				451	0,697/0,635 ²	0,717/0,659 ²	0,662/ 0,593 ²		0,669/ 0,601 ²		
Butterbaugh ja Johnson (1974)	Puumateriaali Käsittely laimealla rikkihapolla (0.08) <i>In vivo</i> -sulavuus, lammas		480	290									
		0					0,56	0,55	0,57			0,38	
		0,25					0,49	0,47	0,59			0,30	
		0,50					0,45	0,44	0,63			0,30	
		0,75					0,37	0,37	0,63			0,31	
Millett ym. (1973)	Valkaistu lehtipuusellu <i>in vivo</i> -sulavuus, vuohi			<0,01	>1000								0,95
		0					0,59			0,642			
		0,2					0,72			0,816			
		0,35					0,78			0,872			
		0,50					0,78			0,863			
	Valkaisematon havupuusellu <i>In vivo</i> -sulavuus, sonni			220	750								0,53
		0					0,68			0,720			
		0,20					0,66			0,730			
		0,35					0,62			0,700			
		0,50					0,60			0,640			
Näsi (1984)	Liukoselluloosa <i>In vivo</i> -sulavuus, lammas			18,0		891							0,35
		0,42					0,77	0,75			0,670 ⁴		

¹ NDF = netraalidetergenttikuitu

² Merkkiaineina käytetty happoon liukenematonta tuhkaa (AIA) ja sulamatonta NDF:ää (iNDF) ³ Orgaanisen aineen *in vitro* -sulavuus ⁴ Raakakuidun sulavuus

5.5 MAITOTUOTOS

Lypsylehmien maidontuotantoon vaikuttaa ennen kaikkea energian saanti, joten vaihtelut ka:n syönnissä ja sulavuudessa selittävät maitotuotoksen vaihteluita. Valkuaisen saanti on energian saannin jälkeen tärkein maidontuotantoon vaikuttava yksittäinen tekijä (Huhtanen ja Nousiainen 2012). Sekä kiintojakeen että MCC:n osuuden lisääntyessä dieeteissä ekm-tuotos laski (taulukko 6). Erot koeruokintojen välillä kummassakin kokeessa olivat kuitenkin pienet.

Karkearehun kuitupitoisuuden lisääntymien vähentää ka:n syöntiä. Syönnin vähenemisen ensisijainen syy on kuitenkin usein samanaikainen rehun sulavuuden huononeminen (Rinne 2000). Kuitupitoisista uusrehuista kiintojake rajoitti syöntiä suuren partikkelikokonsa vuoksi. NDF-pitoisuuden lisääntyminen kokeessa I oli kuitenkin todennäköisesti merkittävämpi syöntiä rajoittava tekijä. Kun kiintojakeen osuus dieetin karkearehusta oli 0,25, ei ka:syönnissä tai ekm-tuotoksessa ollut eroa kontrolliryhmään verrattuna. Kiintojakeen osuuden ollessa puolet karkearehuannoksesta lehmät eivät enää voineet lisätä ka:n syöntiä, minkä seurauksena ekm-tuotos laski suuntaa-antavasti.

Kokeen I maidontuotantotulokset osoittavat korkeatuottoisten lypsylehmien tehokkaan kuidun hyväksikäyttökyvyn. Ekm-tuotos laski vain suuntaa antavasti huolimatta merkitsevästi alentuneista energian ja valkuaisen saannista kiintojakeen osuuden ollessa puolet karkearehuannoksesta. Keskeisin energian saantia ja siten myös ekm-tuotosta rajoittava tekijä kokeessa I oli todennäköisesti pötsin täyteisyys. Kokeessa II MCC:n lisääminen dieettiin ei vaikuttanut ka:n syöntiin kontrolliryhmään verrattuna. MCC:n pienestä partikkelikoosta johtuen sen fysikaaliset ominaisuudet eivät rajoittaneet lehmien ka:n syöntiä eivätkä siten myös ekm-tuotosta. Tuotostulosten tarkastelussa pitää kuitenkin ottaa huomioon koejakson pituus, joka oli molemmissa kokeissa vain kolme viikkoa. Jos koejärjestely olisi ollut jatkuva, ekm-tuotoksen lasku olisi saattanut olla tutkituilla kuitupitoisilla uusrehuilla nyt havaittua suurempi.

Kokeessa I dieetin NDF-pitoisuuden lisääntyessä ME:n saanti väheni käyräviivaisesti samoin kuin syönti, joka oli suurin kiintojakeen osuuden ollessa neljäsosa karkearehuannoksesta. Ekm-tuotos ei kuitenkaan ollut kontrolliruokinnan ekm-tuotosta korkeampi tällä ruokinnalla. Kun puolet karkearehuannoksesta oli kiintojaetta, sekä ka:n syönti, ME:n saanti että ekm-tuotos hieman laskivat. Kokeessa II koeruokintojen välillä ei

ollut eroa ka:n syönnissä tai ME:n saannissa. Huolimatta energian saannin ja tuotetun maidon energian yhteydestä (Huhtanen ja Nousiainen 2012) maitotuotos väheni lineaarisesti MCC:n osuuden lisääntyessä. Tätä tulosta on vaikea selittää kokeessa II käytetyillä menetelmillä. Lisäenergia saattoi ohjautua osittain kudoksiin maidontuotannon sijaan, sillä MCC:tä saaneiden lehmien kuntoluokka nousi.

Vaihtelut lehmien ka:n syönnissä ja sulavuudessa selittävät maitotuotoksen vaihteluita myös muissa kokeissa, joissa nurmirehua on käsitelty mekaanisesti. Apilaa ja nurmea sisältäneen säilörehun ja siitä fraktioidun kiintojakeen ka:n syönnissä ei ollut eroa, mutta rv:n saanti sekä oa:n ja rv:n sulavuudet olivat kiintojaeruokinnalla korkeammat kuin käsittelemättömällä säilörehulla (Damborg ym. 2019). Tämä luultavasti johti kiintojaeruokinnan korkeampaan ekm-tuotokseen käsittelemättömään säilörehuun verrattuna. Kontrollisäilörehun viikkoa myöhäisempi korjuu laski sen valkuaispitoisuutta ja oletettavasti lisäsi lignifioitumisastetta kiintojaesäilörehuun verrattuna, mikä luultavasti aiheutti erot ekm-tuotoksessa vaikka koeruokinoilla ka:n syönti oli yhtä suuri (Damborg ym. 2019).

Raiheinää ja apilaa sisältäneestä laidunnurmesta erotetun kiintojakeen syöttämien alensi maitotuotosta sekä maidon valkuaispitoisuutta, mikä oli luultavasti seurausta ka:n ja oa:n sulavuuden heikkenemisestä (Bryant ym. 1983) ja ilmeisesti myös energian saannin vähenemisestä. Säilörehun repimiskäsittely ei lisännyt ekm-tuotosta (Weisbjerg ym. 2018). Pötsisulatuksen tehostuminen repimisen seurauksena ei lisännyt lehmien energiansaantia siinä määrin, että ekm-tuotos olisi noussut. Myöskään maidon rasva- tai valkuaispitoisuudessa tai -tuotoksessa ei ollut eroa koeryhmien välillä. Tuloksiin saattoi vaikuttaa se, että kokeessa oli mukana vain tuotokauden loppuvaiheessa olleita lehmiä, jotta ainoana koerehuna voitiin käyttää säilörehua (Weisbjerg ym. 2018).

Kokeen I sekä muiden säilörehun fraktioinnin (Damborg ym. 2019) ja puristuksen (Bryant ym. 1983) vaikutuksia sekä repimiskäsittelyä (Weisbjerg ym. 2018) selvittäneiden kokeiden tulosten perusteella voidaan sanoa, että nämä mekaaniset käsittelyt eivät vaikuttaneet rehupartikkelien fysikaalisiin ominaisuuksiin siinä määrin, että sulavuus ja edelleen syönti ja energian saanti olisivat lisääntyneet riittävästi, jotta myös maitotuotos olisi lisääntynyt. Sen sijaan maseroinnin on todettu lisänneen maitotuotosta (Hintz ym. 1999, Broderick ym. 1999). Tähän on saattanut vaikuttaa myös säilörehun parantunut käymislaatu, sillä maserointi paransi rehun tiivistymistä säilöttäessä. Näiden käsittelyjen ero fraktiointiin verrattuna oli suuremman mekaanisen tehokkuuden lisäksi myös se, että niissä ei poistettu

hyvin sulavia ravinteita. Tosin varisemistappiot saattoivat vähentää maseroitujen rehujen sulavuutta.

Puupohjaisten materiaalien rehukäyttöä on selvitetty Suomessa ja muualla maailmassa. Maidontuotantokokeita, joissa olisi käytetty MCC:tä rehukomponenttina, ei kuitenkaan ole kirjoittajan tiedossa. Erilaisten tutkittujen puunjalostusteollisuuden sivutuotteiden selluloosapitoisuus ja niiden sulavuus ovat vaihdelleet huomattavasti (Millett ym. 1973, Butterbaugh ym.1974, Näsi 1984). Näiden kokeiden tulokset eivät ole suoraan vertailukelpoisia MCC:n vaikutusten kanssa, sillä puunjalostusteollisuuden sivutuotteiden sisältämän selluloosan rakenne ei ole tiukkaan pakkautunutta, vetysidosten tiivistämää kuten MCC:n kiteinen rakenne.

Virtasen (1966) tutkimuksessa proteiinittomalla dieetillä energian lähteenä oli perunan tärkkelystä (0,50 – 0,55 dieetin ka:sta), α -selluloosaa (0,25 – 30,0) ja sokereita (sakkarosia) (0,17 – 0,23). Virtanen piti puupohjaisten materiaalien käyttöä sopivana osana lypsylehmien rehustusta. Höyryräjäytetyn puuperäisen hemiselluloosajakeen vaikutuksia lypsylehmien rehuna on tutkittu (Fisher 1980, Tesfa ym. 1992, Kaustell ja Tuori 1993, Herrick ym. 2012). Maitotuotos on lisääntynyt merkitsevästi dieetin hemiselluloosapitoisuuden ollessa korkea (0,10 – 0,20 dieetin ka:sta) (Fisher 1980).

Männynkuorijauho väkirehun korvaajana sen sijaan alensi ekm-tuotosta ja rehuhyötysuhdetta (Kairenius ym. 2020) johtuen sen korkeasta ligniinipitoisuudesta (270 g/kg ka) ja matalasta energia-arvosta (5,65 MJ ME /kg ka). Vaikka männynkuorijauheen käyttö ei ole taloudellisesti kannattavaa, se on mahdollinen rehumateriaali tilanteessa, jossa perusrehujen saatavuus ehtyy tai niiden hinta nousee rajusti esimerkiksi luonnonkatastrofien takia. Männynkuoren käyttö rehuna ei vaadi muuta prosessointia kuin kuivauksen ja jauhamisen toisin kuin sellun prosessointi MCC:ksi. Männynkuori on tämän vuoksi MCC:tä taloudellisesti kilpailukykyisempi vaihtoehto, kun ihmisille soveltumattomien rehumateriaalien käyttöä märehittäjien rehukomponentteina halutaan lisätä kriisitilanteiden varalta.

Haavasta tehty sahajauho on myös osoittautunut kelvolliseksi rehumateriaaliksi korvaamaan säilörehua tilanteessa, jossa nurmirehun saatavuus on rajoittunut (Prestløkken ja Harstad 2019). Selluloosan käyttöä märehittäjien rehuna on selvitetty Huoltovarmuuskeskuksen pyynnöstä jo 1980-luvulla. Sotavuosina (1939-1945) paalattu,

puupohjainen selluloosa rehun korvikkeena oli Suomen lypsykarjatalouden pelastus. Sen ansiosta välttyttiin lypsylehmien määrän ja maidontuotannon romahtamiselta (Heikura 2013).

Taulukko 6. Mekaanisesti käsiteltujen nurmirehujen vaikutus maidontuotantoon.

¹ka = kuiva-aine (Kokeessa I kiintojakeen osuudet dieetin karkearehusta 0, 0,25 ja 0,50) ² NDF = neutraalidetergenttikuitu ³ Ekm = energiakorjattu maitotuotos

Kirjallisuus	Karkearehutyypin ja käsittelyn kuvaus	Kiintojakeen dieetin ka ¹ :sta	Dieetin NDF ² , g/kg ka	Tuotos/pv					Maidon koostumus, g/kg			
				Maito, kg	Ekm ³ ,kg	Rasva, g	Valkuainen, g	Laktoosi, g	Rasva	Valkuainen	Laktoosi	Urea,mg/100ml
Koe I	Nurmisäilörehu, kaksoisruuvipuristus	0	418	37,2	39,8	1706	1327	1620	46,0	35,7	43,5	32,7
	-"-	0,125	437	37,5	39,8	1703	1330	1630	45,5	35,5	43,5	33,7
	-"-	0,250	448	36,3	38,5	1646	1279	1589	45,6	35,4	43,8	32,2
Damborg ym. (2019)	Raiheinää ja apilaa sisältävä säilörehu	0	290	35,4	33,7	1280	1220	1690	37,9	36,3	50,3	
	-"- kaksoisruuvipuristus	1,0	324	38,2	37,6	1440	1330	1880	38,4	35,5	50,2	
Pijman ym. (2018)	Nurmisäilörehu,	0			30,7							
	-"- ruuvipuristus	0,62			30,3							
Bryant ym. (1983)	Raiheinää ja apilaa sisältävä laidunnurmi	0	295	14,7		630	542	794	42,9	36,9	50,3	
	-"- pulpperi-käsittely ja ruuvipuristus	1,0	344	13,0		527	462	654	40,6	35,6	50,3	
	Sinimailas-kasvusto	0		10,9		507	385	863	46,5	35,3	49,2	
	-"- pulpperi-käsitelty ja ruuvipuristus	1,0		9,9		454	343	490	45,9	34,6	49,5	
Weisjberg ym. (2018)	Raiheinää ja apilaa sisältävä säilörehu	0	299	16,0	16,5							
	-"- repimiskäsittely	1,0	307	16,8	17,1							
Broderick ym. (1999a)	Sinimailassäilörehu	0,61	432	34,2	36,0	1300	1150		38,4	33,8		16,2
	-"- maserointi	0,60	880	36,6	37,5	1340	1230		36,7	33,8		15,5
	Sinimailassäilörehu	0,51		37,4	38,6	1390	1300		37,7	35,0		16,6
Mertens & Koegel (1996)	Sinimailassaäilörehu	0,60	269	35,4					32,9	28,9		
	-"- maserointi	0,60	282	35,7					29,8	28,9		

5.6. MAIDON KOOSTUMUS

Ruokinnallisista tekijöistä eniten maidon valkuaispitoisuuteen vaikuttaa energian saanti (Huhtanen ja Rinne 2007). Säilörehun sulavuuden paranemisen on todettu nostavan maidon valkuaispitoisuutta johtuen lisääntyneestä säilörehun syönnistä ja pötsimikrobien parantuneesta energian saannista (Mertens ja Huhtanen 2007, Huhtanen ja Rinne 2007). Huhtanen ja Rinne (2007) selvittivät maitotuotoksen nousua ja sen vaikutuksia maidon koostumukseen meta-analyysillä. Sen tulosten mukaan säilörehun sulavuuden paranemisella oli huomattava vaikutus maidon valkuaispitoisuuden nousuun (R^2 0,32). Kokeissa I ja II uusrehujen vaikutukset maidon pitoisuuksiin selittyivät dieettien NDF-pitoisuuksien ja dieettien sulavuuksien eroilla.

Tutkittujen uusrehujen vaikutukset maidon koostumukseen olivat vähäisiä. Kiintojakeen osuuden lisääminen dieetissä ei vaikuttanut maidon valkuaispitoisuuteen, vaikka dieetin iNDF-merkkiaineella määritetty oa:n sulavuus laski lineaarisesti. Karkearehun syönti ja ME:n saanti muuttuivat käyräviivaisesti ja olivat korkeimmat, kun kiintojakeen osuus oli 0,25. Maidon valkuaispitoisuuden ei kuitenkaan havaittu nousevan tällä koeruokinnalla. Kiintojakeen osuuden ollessa 0,25 säilörehun fraktioiden vaikutus pötsin VFA:n suhteisiin luultavasti esti propionihapon ja etikkahapon välisen suhteen nousemisen ja maidon valkuaispitoisuuden lisääntymisen. Etikkahappopitoisuuden nousu ei luultavasti merkitsevyydestä huolimatta ollut riittävä alentamaan glukogeenisen propionihapon osuutta ja siten laskemaan maidon valkuaispitoisuutta.

Väkirehun määrän lisäämisellä on havaittu olevan huomattava vaikutus maidon valkuaispitoisuuden nousuun (R^2 0,81) (Huhtanen ja Rinne 2007). Kummassakin kokeessa väkirehuannos oli kaikilla ruokinnolla yhtä suuri. Kokeessa I dieetin valkuaispitoisuus pieneni NDF-pitoisuuden lisääntyessä mutta kokeessa II koedieettien valkuaispitoisuudet tasattiin yhtä suuriksi, koska MCC:n rv-pitoisuus oli hyvin pieni. Eniten MCC:tä sisältävän dieetin väkirehuannoksessa oli huomattavasti enemmän rypsirouhetta, joten maidon valkuaispitoisuuden lasku kokeessa II oli yllättävää huolimatta maidon valkuaispitoisuudelle välttämättömien aminohappojen saannista rypsirouheessa. Tanniinin on todettu vähentävän valkuaisen imeytymistä ohutsuolessa (Frutos ym. 2004). Voidaan spekuloida, riittikö MCC:n sisältämä hyvin alhainen tanniinipitoisuus (175 mg/100g) heikentämään valkuaisen imeytymistä ohutsuolessa.

Väkirehun NDF-pitoisuuden lisääntymisen on havaittu vaikuttavan maidon valkuaispitoisuuteen vain vähän (R^2 0,18) (Huhtanen ja Rinne 2007). Myöskään MCC:n lisääminen dieettiin ei vaikuttanut maidon valkuaispitoisuuteen huolimatta NDF-pitoisuuden lisääntymisestä koeruokintojen välillä.

Dieetin kuitupitoisuuden nousu nostaa yleensä myös ketogeenisten rasvahappojen pitoisuutta ja sen seurauksena maidon rasvapitoisuutta (Huhtanen ja Rinne 2007). Tähän luultavasti vaikuttaa myös kuidun ruokinnallisen laadun heikkeneminen kasvuasteen edetessä. Tämä vaikutus ei tullut tässä työssä esille, sillä pötsin haihtuvien rasvahappojen osuuksissa ei ollut muuta eroa, kuin kokeessa I kiintojakeen osuuden lisäämisen aiheuttama etikkahapon osuuden nousu. Sen ei oletettavasti kuitenkaan ollut riittävä nostamaan maidon rasvapitoisuutta. Fraktioinnin mekaanisen vaikutuksen vuoksi kuidun sulavuus luultavasti tehostui ja pötsin haihtuvien rasvahappojen välisissä suhteissa havaittiin vain suuntaa-antava, dieetin lisääntyneen kuitupitoisuuden aiheuttama etikka- ja voihiapon pitoisuuden nousu suhteessa propionihapon pitoisuuteen. Tätä tukee myös koedieettien yhtä korkea pH.

Maseroinnin on todettu laskevan maidon rasvapitoisuutta (Hintz ym. 1999). Se luultavasti heikensi rehuartikkeleiden rakennetta todella tehokkaasti ja sen vaikutukset kuidun sulavuuteen olivat merkittävämpiä kuin fraktioinnin vaikutukset (Damborg ym. 2019, koe I). Maseroinnin seurauksena etikkahapon ja propionihapon suhde pieneni, mikä oli seurausta joko nopeammasta sulatuksesta tai vähentyneestä märehäytymisen tarpeesta (Hintz ym. 1999). Laidunnurmen puristus ja fraktiointi eivät vaikuttaneet maidon rasvapitoisuuteen (Bryant ym. 1983). MCC:llä ei ollut vaikutusta pötsin haihtuvien rasvahappojen pitoisuuksiin, niiden suhteisiin tai maidon rasvapitoisuuteen.

5.7 TUOTANNON TEHOKKUUS

5.7.1 KUIVA-AINEEN JA ENERGIAN KÄYTÖN TEHOKKUUS

Kummassakin kokeessa ekm-tuotoksen suhde kuiva-aineen syöntiin pieneni dieettien NDF-pitoisuuksien lisääntyessä. Kokeessa I kiintojakeen osuuden kasvaessa ekm-tuotos laski lineaarisesti ja suuntaa-antavasti, mutta ka:n syönti lisääntyi käyräviivaisesti. Rehuhyötysuhde oli matalin kiintojakeen osuuden ollessa neljäsosa dieetin karkearehusta. Tällä ruokinnalla ka:n syönti oli suurin, mutta ekm-tuotos ei ollut kontrolliryhmän tuotosta

korkeampi. Syytä siihen, miksi tällä ruokinnalla korkeimmasta ka:n syönnistä huolimatta tuotosvaikutus oli pienin, ei tässä tutkimuksessa käytetyillä menetelmillä saatu selville. Myös ME:n saanti oli tällä ruokinnalla suurin, mutta ME:n hyväksikäyttö heikointa, koska tuotos ei lisääntynyt. Maseroinnin ei havaittu lisäävän ka:n syöntiä, mutta maitotuotos lisääntyi (Mertens ja Koegel 1996). Myös nettoenergian käyttö maidontuotantoon on lisääntynyt maseroinnin seurauksena noin 10 % (Hintz ym. 1999). Oletettavasti maseroinnin fraktiointia tehokkaampi mekaaninen vaikutus aiheutti rehun hyväksikäytön tehostumisen maidontuotantoon (Hintz ym. 1999).

Damborg ym. (2019a) havaitsivat kiintojaesäilörehun rehuhyötysuhteen olevan parempi kuin fraktioimattoman säilörehun ja he arvelivat fysikaalisen käsittelyn tehostaneen kuidun hyväksikäyttöä käsittelemättömään säilörehuun verrattuna. Heidän kokeessaan kontrollisäilörehun korjaaminen viikkoa myöhemmin nosti sen lignifioitumisastetta, minkä vuoksi koerehut eivät ole täysin vertailukelpoisia. Säilörehun kiintojakeen parempi rehuhyötysuhde on saattanut johtua myös kiintojaesäilörehun fermentaatiotuotteiden haihtumistappioiden aiheuttamasta ka:n syöntimäärän aliarvioimisesta (Damborg ym. 2019). Kokeessa I säilörehun ka-pitoisuus korjattiin haihtuvien rasvahappojen osalta (Huida ym. 1986). Raiheinää ja apilaa sisältäneen laidunnurmen puristaminen ja fraktiointi alensivat maitotuotosta, mutta kuiva-aineen syönnin väheneminen koedieeteillä saattoi pitää rehuhyötysuhteen kontrollidieetin tasolla (Bryant ym. 1983)

Kokeessa II ekm-tuotoksen suhde kuiva-aineen syöntiin pieneni lineaarisesti. MCC:n lisääntyminen dieetissä ei lisännyt syöntiä mutta vähensi maitotuotosta, mikä seurauksena rehuhyötysuhde heikkeni. Myös muut määritetyt rehun hyväksikäyttöä ja maidontuotannon tehokkuutta kuvaavat muuttujat heikkenivät lineaarisesti dieetin NDF-pitoisuuden lisääntyessä. MCC:n osuuden ollessa korkein lehmät eivät energiataselaskelman mukaan joutuneet mobilisoimaan kudosvarastojaan tuotantoon ja ylläpitoon. Tätä tukee myös kuntoluokan suurin, positiivinen muutos kyseisellä ruokinnalla kokeen aikana.

ME:n saannit koedieeteillä olivat lähes yhtä suuret huolimatta MCC:n osuuden lisääntymisestä, mikä johti ekm-tuotoksen laskun seurauksena rehuhyötysuhteen heikkenemiseen. Myös energia-arvoltaan matalan ja heikosti sulavan männynkuorijauhon käyttö lypsylehmien väkirehukomponenttina heikensi rehuhyötysuhdetta (Kairenius ym. 2020). Kokeessa II rehun sulavuuteen perustuneet energiataseet olivat MCC:n osuuden

ollessa 0,10 huomattavasti muita koeruokintoja korkeammat. Lehmät eivät joutuneet energiataselaskelman mukaan mobilisoimaan kudosvarastojaan tuotantoon ja ylläpitoon edes MCC:n osuuden ollessa 0,1 vaan kudosvarastojen kerääntymistä kokeessa II tukee kuntoluokan suurin, positiivinen muutos kyseisellä ruokinnalla. Energiatase nousi myös männynkurojauhon osuuden lisääntyessä dieetissä (Kairenius ym. 2020).

5.7.2. TYPEN HYVÄKSIKÄYTÖN TEHOKKUUS

Typen hyväksikäyttö maidontuotannossa määräytyy sen saannin perusteella (Huhtanen ym. 2008b). Typen hyväksikäyttö tehostui kokeessa I, sillä kiintojakeen rv-pitoisuuden vähenemisen vuoksi lehmien rv:n saanti aleni, mutta ekm-tuotos pysyi lähes samalla tasolla dieetin NDF-pitoisuuden lisääntymisestä huolimatta. MCC:n osuuden lisääntyminen ei vaikuttanut typen hyväksikäyttöön maidontuotannossa, sillä rv:n saanti koedieeteistä oli vakioitu ja ekm-tuotos laski numeerisesti vain vähän. Molemmissa kokeissa typen hyväksikäyttö maidontuotantoon (koe I 0,300 ja koe II 0,296) oli tehokkaampaa kuin Huhtasen ym. (2008) mittavasta koeaineistosta määrittämä keskimääräinen typen hyväksikäyttöluku 0,277.

Kokeen I tulokset osoittivat, että dieetin NDF-pitoisuuden lisäämisellä voidaan tehostaa typen hyväksikäyttöä ilman maitotuotoksen merkittävää laskua. Ravinteiden, etenkin typen ja fosforin, hyväksikäytön tehostamiseen ja ravinnekuormituksen vähentämiseen pitäisi kotieläintaloudessa kiinnittää yhä enemmän huomiota. Säilörehun kiintojaetta on käytetty korvaamaan nurmisäilörehua sen vähäisen typpi- ja fosforipitoisuuden vuoksi ja onnistuttu tehostamaan näiden ravintoaineiden hyväksikäyttöä maidontuotannossa ilman tuotoksen merkittävää laskua (Pijman ym. 2018). Myös MCC voisi lisätä typen ja fosforin hyväksikäytön tehokkuutta, sillä se ei sisällä käytännössä lainkaan näitä ravintoaineita.

6. JOHTOPÄÄTÖKSET

1. Fraktioidin aiheuttama kuidun mekaaninen käsittely tehosti kuidun sulatusta, minkä seurauksena lehmät pystyvät lisäämään ka:n syöntiä dieetin NDF-pitoisuuden noususta huolimatta.
2. Kiintojakeita sisältävien dieettien korkeasta NDF-pitoisuudesta huolimatta oa:n sulavuus ei laskenut, mikä syönnin lisääntymisen kanssa esti ekm-tuotoksen merkittävän vähenemisen. Kiintojakeen osuuden ollessa puolet karkearehuanoksesta, ekm-tuotos väheni vain 2,4 % kontrolliruokintaan verrattuna. MCC:n lisääminen dieettiin pienensi ekm-tuotosta 4,0 % lisääntyneestä ME:n saannista huolimatta.
3. *In vivo* -sulavuusmääritysten perusteella MCC oli hyvin sulavaa verrattuna *in vitro* -sulavuustuloksiin. Sen lisääminen paransi dieetin NDF:n sulavuutta ja laskennallisesti kaikki MCC:n sisältämä NDF oli sulavaa. Lisäksi MCC oli hyvin maittavaa eikä se rajoittanut lehmien ka:n syöntiä kontrolliruokintaan verrattuna.
4. MCC:n pötsiolosuhteita mahdollisesti tasoittavat vaikutukset eivät tulleet tässä työssä esille kokeessa käytettyjen pötsin toimintaa tasapainottavien ruokintaratkaisujen kuten seosrehun käytön sekä maltillisen väkirehun ja karkearehun suhteen vuoksi. MCC:n pieni partikkelikoko ei luultavasti stimuloinut märehmistä joten on mahdollista, että MCC:n pötsiolosuhteita tasaava vaikutus ei tulisi esille haastavimmissakaan ruokintaolosuhteissa. Kiintojakeen lisääminen dieettiin ei vaikuttanut pötsin olosuhteisiin käsittelemättömään säilörehuun verrattuna.
5. Kiintojakeen matala rv-pitoisuus johti tehostuneeseen tyen hyväksikäyttöön maidontuotannossa.
6. Lehmät pystyivät käyttämään hyväkseen tutkittuja kuitupitoisia uusrehuja. Näiden käyttö märehijöiden rehuna voisi olla osa kestäväää ruokajärjestelmää. Nurmibiojalostamossa muodostuneen kiintojakeen rehukäyttö voisi tehostaa luonnonvarojen hyödyntämistä ja puupohjaisen MCC:n käyttö viljan tai pellolla tuotettujen karkearehujen korvaajana voisi säästää peltoalaa ihmisravinnoksi sopivien kasvien tuottamiseen.

7. JATKOTUTKIMUSAIHEITA

Kuitupitoisten uusrehujen sulavuus- ja virtauskinetiikkaa pitäisi tutkia fysiologisessa kokeessa. Tällöin saataisiin tarkempaa tietoa mekaanisen käsittelyn vaikutuksesta säilörehun sisältämän NDF:n sulavuuteen. Lisäksi olisi hyödyllistä selvittää MCC:n tiukkaan pakkautuneen kiderakenteen vaikutus pötsisulatukseen.

Erilaisilla laitteistoilla ja tehokkuudella tapahtuvan fraktioinnin vaikutukset rehun fysikaaliseen olomuotoon tulisi selvittää. Tulokset saattaisivat mahdollistaa säilörehun korjaamisen myöhemmällä kasvuasteella ka-saannon lisäämiseksi ilman rehun sulavuuden laskusta aiheutuvaa tuotoksen vähenemistä.

Kuitupitoisten uusrehujen tuotantovaikutuksia pitäisi tutkia ns. jatkuvilla kokeella, jolloin rehujen pitkäaikaisen syötön vaikutukset saataisiin esiin.

Pötsin pH:n vaihteluiden tasaamista MCC:n avulla olisi tutkittava haastavissa ruokintaolosuhteissa. Lisäksi MCC:n käyttömäärien pitäisi olla suuremmat kuin kokeessa II.

Kuitupitoisten uusrehujen käytön vaikutukset kotieläintalouden hiilijalanjälkeen pitäisi selvittää. Nurmituotannon tehostuminen lisäisi hiilen sitoutumista maaperään ja puupohjaisen rehumateriaalin valmistus vaatii vähemmän fossiilitaloudesta peräisin olevia tuotantopanoksia kuin nurmituotanto.

8. KIRJALLISUUS

- Adler, S. 2018b. Biorefining forage legumes for cows, poultry and pigs in organic farming. NIBIO, Norway. <https://nibio.no/en/projects/prorefine>
- Adler, S., Johansen, A., Ingvaldstadt, A. K., Etun, R. & Gjerlaug-Enger, E. J. 2018. Forages - a local protein source for growing pigs. Proceedings of the IXth Nordic Feed Science Conference, June 12-13, Uppsala, Sweden, s. 61-65.
- Allen, M. S. & Mertens, D. R. 1988. Evaluation constrains on fibre digestion by rumen microbes. *Journal of Nutrition* 118: 261-270.
- Battista, O. A. 1950. Hydrolysis of crystallization of cellulose. *Industrial & Engineering Chemistry* 42: 502-507.
- Bosch, M. W. & Bruining, M. 1995. Passage rate and total clearance rate from the rumen of cows fed grass silage differing in cell wall content. *British Journal of Nutrition* 73: 41-49.
- Broderick, G. A, Koegel, R. G., Mauries, M. J. C., Schneeberger, E. & Krauss, T.J. 1999. Effect of feeding macerated alfalfa silage on nutrient digestibility and milk yield in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81: 2472-2485.
- Bryant, A. M., Carruthers, V. R. & Trigg, T. E. 1983. Nutritive value of pressed herbage residues for lactating dairy cows. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 26: 79-84.
- Butterbaugh, J. W. & Johnson, R. R. 1974. Nutritive value of acid hydrolysed wood residue in ruminant rations. *Journal of Animal Science* 38: 394-403.
- Chiesa, S. & Gnansounou, E. 2011. Protein extraction from biomass in a bioethanol refinery – Possible dietary applications: Use as an animal feed and potential extension to human consumption. *Bioresource Technology* 102: 427-436.
- Choct, M. 1997. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structure and nutritional significance. *Feed Milling International*, June Issue s.13-26.
- Dahl, O., Vanhatalo, K. & Parviainen, K. 2011a. A novel method to produce microcellulose. FI patent 2011050526.
- Dahl, O., Vanhatalo, K., Parviainen, K. & Svedman, M. 2011b. A novel method to produce microcellulose. FI patent 2011050527.

Damborg, V. K., Stødkilde, L., Jensen, S. K. & Weisbjerg, M. R. 2018. Protein value and degradation characteristics of pulp fibre fractions from screw pressed grass, clover and lucerne. *Animal Feed Science and Technology* 244: 93-103.

Damborg, V. K., Jensen, S. K., Johansen, M., Ambye-Jensen, M. & Weisbjerg, M. R. 2019. Ensiled pulp from biorefining increased milk production in dairy cows compared with grass-clover silage. *Journal of Dairy Science* 102: 8883-8897.

Damborg, V. K. 2019. Green biorefinery – characterization and utilization of the pulp fraction from extraction of green protein from grassland plants. PhD thesis. Aarhus university, Department of Animal Science. 159 s.

Edwards, R. H., Miller, R., E., De Fremery, D., Knuckles, B. E, Bickoff, E. M. & Kohler, G. O. 1975. Pilot plant production of an edible white fraction leaf protein concentrate from alfalfa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23: 620-626.

Fan, L. T., Gharpuray, M.M. & Lee, Y. H. 1987. Cellulose hydrolysis. Teoksessa: Aiba, S., Fan, L.T., Fiechter, A., Klein, J. & Schügerl, K. (toim.). Cellulose Hydrolysis. New York, USA: Springer-Verlag. 198 s.

FAO, 2018. <http://www.fao.org/docrep/w6355e/w6355e0l.htm>
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/Additiv e-280.pdf. Viitattu 25 lokakuuta 2019.

Fengel, D. & Wegener, G. 1989. Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reaction. Berlin and New York: W. de Gruyter. s. 601-602

Fisher, L.J. 1980. An evaluation of stem-treated aspen as a substitute for corn silage in the rations of lactating cows. *Canadian Journal of Animal Science* 60: 379-384.

FMC. 2014. Fun facts about Avicel® microcrystalline cellulose also known as cellulosegel. Available at: <http://www.fmcbiopolymer.com/Food/Home/News/FiftyYearsofAvicel.aspx> (accessed 19.11.2019).

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1996. Microcrystalline cellulose. Available at: <http://www.fao.org/docrep/w6355e/w6355e0l.htm> (accessed 10.10.2019).

- Franco, M., Hurme, T., Winquist, E. & Rinne, M. 2019. Grass silage from biorefinery – A meta-analysis of silage factors affecting liquid-solid separation. *Grass Forage Science* 74: 218-230.
- Frutos, P., Hervas, F. J., Giraldez, F.J. & Mantecon, A. R. 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2: 191-202.
- Gasa, J., Holteniu, K., Sutton, J.D, Dhanoa, M. S. & Napper, D. J. 1991. Rumen fill and digesta kinetics in lactating Friesian cows given two levels of concentrates with two types of grass silage *ad libitum*. *British Journal of Nutrition* 66: 381-398.
- Girard, M. A. 1875. Note sur un dérivé par hydratation de la cellulose. *CR Hebd Seances Acad Sci* 81: 1105-1108. ref. Vanhatalo 2017.
- Habibi, Y., Lucian, A. & Rojas, O. J. 2010. Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly and applications. *Chemical Reviews* 110: 3479–3500.
- Heikura, P. T. 2013. Pötsin täytteeksi sellua. *Kemia-lehti* 3 /2013.
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Rinne, M., Lamminen, M., Mapato, C., Ampapon, T., Wanapat, M. & Vanhatalo, A. 2018. Review: Alternative and novel feeds for ruminants: nutritive value, product quality and environmental aspects. *Animal* 12: 295-309.
- Hermansen, J.E., Jørgensen, U., Lærke, P. E., Manevski, K, Boelt, B., Jensen, S. K., Weisbjerg, M. R., Dalgaard, T. K., Asp, T., Amby-Jensen, M., Sorensen, C. A. G., Jensen, M. V., Gylling, M., Leindedam, J., Lübeck, M. & Fog, E. 2017. Green biomass – protein production through bio-refining. DCA Report No. 093. Aarhus University, Denmark. 68 s.
- Herrick, K. J., Hippen, A. R., Kalscheur, K.F., Anderson, J.L., Rananthunga, S.D., Patton, R.S. & Abdullah, M. 2012. Lactation performance and digestibility of forages and diets in dairy cows fed a hemicellulose extract. *Journal of Dairy Science* 94: 3342-3353.
- Hintz, R. W, Koegel, R. G., Kraus, T. J. & Mertens, D. R. 1999. Mechanical maceration of Alfalfa. *Journal of Animal Science* 77: 187-193.
- Hoover, W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science* 69: 2755-2766.

- Houseman, R. A. & Connell, J. 1976. The utilization of the products of green-crop fractionation by pigs and ruminants. 1976. Proceedings of the Nutritional Society 35: 213-220.
- Huhtanen 1984. Wood molasses as a preservative for high moisture barley. 3. Feeding value for growing cattle. Journal of Agric Science in Finland 56: 275-282.
- Huhtanen, P. & Jaakkola, S. 1994 Influence of grass maturity and diet on ruminal dry matter and neutral detergent fibre digestion kinetics. Archives of Animal Nutrition 47: 153-167.
- Huhtanen, P., Jaakkola, S. & Kukkonen, U. 1995. Ruminal plant cell wall digestibility estimated from digestion and passage kinetics utilizing mathematical models. Animal Feed Science and Technology 52: 159-173.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J. & Rinne, M. 2006a. Recent developments in forage evaluation with special reference to practical application. Agricultural and food science 15: 293-323.
- Huhtanen, P., Ahvenjärvi, S., Weisbjerg, M. R. & Nørgaard, P. 2006b. Digestion and passage of fibre in ruminants. Teoksessa: Sejrsen, K., Hvelplund, T. & Nislen, M.O. (toim.) Ruminant physiology: Digestion, metabolism and impact of nutrition in gene impression, immunology and stress. (Proceedings of the X International Symposium on Ruminant Physiology, Copenhagen, Denmark). Wageningen Academic Publishers. s. 87-135.
- Huhtanen, P., Asikainen, U., Arkkila, M. & Jaakkola, S. 2007a. Cell wall digestion and passage kinetics estimated by marker and in situ methods or by rumen evacuations in cattle fed hay 2 of 18 times daily. Animal Feed Science and Technology 133: 206-2777.
- Huhtanen, P. & Rinne, M. 2007. Effects of increasing the milk yield of dairy cows on milk composition. Journal of Animal and Feed Sciences 16: 42-58.
- Huhtanen, P., Rinne, M. & Nousiainen, J. 2008a. Evaluation of concentrate factors affecting silage intake of dairy cows: a development of the relative total intake index. Animal 2: 942-953.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J., Rinne, M., Kytölä, K. & Khalili, H. 2008b. Utilization and partition of dietary nitrogen in dairy cows fed grass silage-based diets. Journal of Dairy Science 91: 3589-3599.
- Huhtanen, P. & Nousiainen, J. 2012. Production responses of lactating dairy cows fed silage-based diets to changes in nutrient supply. Livestock Science 148: 146-158.

- Huida, L., Väätäinen, H. & Lampila, M. 1986. Comparison of dry matter contents in grass silage as determined by oven drying and gas chromatographic water analysis. *Annales Agriculturae Fenniae* 25: 2015-230.
- Hulkkonen, I. 2019. The influences of feeding pressed juice to fattening pigs. Master's thesis. University of Helsinki 52 p.
- Jung, H.G. 1989. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. *Agronomy Journal* 1: 33-83.
- Jung, H. G. F., Engels, F. M. & Weimer, P. J. 2004. Degradation of Lucerne Stemm cell walls by five rumen bacteria species. *New Zealand Journal of Agricultural Science* 52: 11-28.
- Kairenius, P., Mäntysaari, P. & Rinne, M. 2020. The effect of gradual dietary pine bark meal supplementation on milk production of dairy cows fed grass silage-based diet. *Animal Feed Science and Technology* 259: 114358. [doi:10.1016/j.anifeedsci.2019.114358](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114358)
- Kamm, B. & Kamm, M. 2004. Principles of Biorefineries. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64: 137-145.
- Kamm, B. & Kamm, M. 2007. International biorefinery systems. *Pure and Applied Chemistry* 79: 1983-1997.
- Kamm, B., Schönicke, P. & Kamm, M. 2009. Biorefining of green biomass – technical and energetic consideration. *CLEAN – Soil, Air, Water* 37: 27-30.
- Kamppari, K. 2019. The influence of grass silage juice on fatty acid composition and vitamin E content and its effect on color and fat oxidation in vacuum and MAP packaged pork meat during storage. Masters's thesis. University of Helsinki.
- Kaustell, K. & Tuori, M. 1993. The effects of steam exploded birch wood to milk yield and composition and energy balance of dairy cows given grass silage *ad libitum*. *World Conference on Animal Production 1993*. Edmonton Canada. s. 348-349.
- Kerley, M.S., Fahey, Jr., G.C., Gould, M.J. & Iannotti, E.L. 1988. Effects of lignification, cellulose crystallinity and enzyme assessable space on digestibility of plant cell wall carbohydrates by the ruminant. *Food Structure* 7: 59–65

- Keto L, Perttilä, S., Särkijärvi, S., Kamppari, K., Immonen, N., Kytölä, K., Ertbjerg, P. & Rinne, M. 2020. Grass silage from biorefinery – Silage juice as a dietary component for growing pigs Submitted to the 27th General Meeting of the European Grassland Federation, 22 -25 June 2020, Helsinki, Finland.
- Koch, G. 2006. Raw material for pulp. Teoksessa: Sixta, H. (toim.) Handbook of Pulp. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany
- Koegel, R. G, Straub R. J., Shinnors, K. J., Broderick, G., A. & Mertens, D. R. 1992. An overview of Physical Treatment of Lucerne Performed at Madison, Wisconsin, for Improving Properties. Journal of Agricultural Engineering Research 52: 183-191.
- Kraus, T. J., Koegel, R. G., Sinners, K. J. & Straub, R. J. 1990. Impact maceration of alfalfa. ASAE Paper No. 90-1054.
- Krause, K. M. & Oetzel, R. G. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. Animal Feed Science and Technology 126: 215–236.
- Krässig, H., Schurz, J., Steadman, R. G., Schliefer, K., Albrecht, W., Mohring, M. & Schlosser, H. 2003. Cellulose. Teoksessa: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH.
- Kujala L. 2018. Kemijärven biojalostamo tuottaa toteutuessaan selluloosaa, liukosellua, mikrokiteistä selluloosaa ja mäntyöljyä. Lapin Kansa. 29.3.2018.
- Kuoppala, K., Rinne, M., Nousiainen, J. and Huhtanen, P. 2008. The effect of cutting time of grass in primary growth and the interactions between silage quality and concentrate level on milk production of dairy cows. Livestock Science 116: 171-182.
- Lange, L. 2019. The Fundamentals of Bioeconomy – The Biobased Society. Circular Bioeconomy Days 25 – 27 June 2019. Aarhus, Denmark. 20 s.
- Lechner-Doll, M., Kaske, M. & von Engelhardt, W. 1991. Factors affecting the mean retention time of particles in the forestomach of ruminants and camelids. Teoksessa: Tsuda, T., Sasaki, Y. & Kawashima, R. (toim.) Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. s. 455-482.
- Leppänen, K., Spetz, P., Kitunen, V. & Ilvesniemi, H. 2011. Pressurized hot water extraction of hemicellulose using a flow-through system. Wood Science and Technology 45: 223-236.

- Luke, 2019a. Luonnonvarakeskus (Luke). Viitattu 11. marraskuuta 2019 <https://www.luke.fi/tietoa-luonnonvaroista/maatalous-ja-maaseutu/nurmentuotanto/>
- Luke, 2019b. Rehutaulukot ja ruokintasuositukset. Luonnonvarakeskus (Luke). Viitattu 15 lokakuuta 2019, www.luke.fi/feedtables.
- MAFF 1984. Energy allowances and feeding systems for ruminants. Teoksessa: ADAS Reference Book, No. 433. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, UK.
- Mandl, M.G. 2010. Status of green biorefining in Europe. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 4: 268-274.
- Makkar, H. P. S. & Ankers, P. 2014. Towards sustainable animal diets: A survey-based study. *Animal Feed Science and Technology* 198: 309-322.
- Martineau, H., Lapierre, H., Ouellet, D. R., Pellerin, D. & Berthiaume, R. 2006. In situ degradation of timothy conserved as restrictively or extensively fermented silage or hay. *Canadian Journal of Animal Science*. 96: 299-306.
- Matthews, J. F., Skopec, C. E., Mason, P. E., Zuccato, P., Torget, R. W., Sugiyama, J., Himmel, M. E. & Brady, J. W. 2006. Computer simulation studies of microcrystalline cellulose. *Carbohydrate Research* 341: 138-152.
- McEniry, J. & O'Kiely, P. 2013. The estimated nutritive value of three common grassland species at three primary growth harvest dates following ensiling and fractionation of press-cake. *Agricultural and Food Science* 22: 194-200.
- Mertens, D. R., Koegel, R. G. & Straub, R. J. 1991. Altered ruminal fermentation in lactating cows fed rations containing macerated alfalfa. Teoksessa: 1991 Research Summaries, U.S. Dairy Forage Research Center, Madison WI, United States. s. 89-92.
- Mertens, D. R & Koegel, R. G. 1996. Maceration of Alfalfa Hay and Silage improves Milk Production. Teoksessa: 1996. Research Summaries. US Dairy Forage Research Center, Madison, WI. s. 35-36.
- Mertens, D.R. & Huhtanen, P. 2007. Grass forages: Dynamics of digestion in the rumen. (Proceedings of the New York Ruminant Health-Nutrition Conference, Syracuse, NY and 47th Annual New England Dairy Feed Conf. West Lebanon, NH), Cornell University, NY 2007). s. 1-20.

- Millett, M.A., Baker, A. J., Feist, W. C., Mellenberger, R.W. & Satter, L.D. 1970. Modifying wood to increase its *in vitro* digestibility. *Journal of Animal Science* 31: 718-788.
- Millett, M. A., Baker, A. J., Satter, L. D., McGovern, J. N. & Dinius, D. A. 1973. Pulp and papermaking residues as feedstuff for ruminants. *Journal of Animal Science* 37: 599–607.
- Modesto, M., D'Aimmo, M. R., Stefanini, I., Trevisi, P., De Filippi, S., Casini, L., Mazzoni, M, Bosi, P. & Biavati, B. 2009. A novel strategy to select *Bifidobacterium* strains and prebiotics as natural growth promoters in newly weaned pigs. *Livestock science* 122: 248-258.
- Mourino, F., Akkarawongsa, R. & Weimer, P. J. 2001. Initial pH as a determinant of cellulose digestion rate by mixed ruminal microorganism *in vitro*. *Journal of Dairy Science* 84: 848-859.
- Nousiainen, J., Ahvenjärvi, S., Rinne, M., Hellämäki, M. & Huhtanen, P. 2003. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology* 115: 295-311.
- Nsor-Atindana, J., Chen, M., Goff, H. D., Zhong, F., Sharif, H. R. & Li, Y. 2017. Functionality and nutritional aspects of microcrystalline cellulose in food. *Carbohydrate Polymers* 172: 159–174.
- Näsi, M. 1984. Evaluation of various types of forest biomass and wood processing residues as feed for ruminants. *Journal of Agricultural Science in Finland* 56: 205–212.
- Orth, G. O., Orth, R. D., Jones, R. N. & Yoncoskie, R. A. 1977. Process of making food for ruminant animals from wood and/or woody products. United States Patent. April 12, 1977.
- Pijlman, J., Koopmans, S., De Haan, G., Lenssinck, F., Van Houwelingen, K. M, Sanders, J. P. M., Deru, J. G. C. & Erisman, J. W. 2018. Effect of the grass fibrous fraction obtained from biorefinery on N and P utilization of dairy cows. (Proceedings of the XX Nitrogen workshop, 25-27 June 2018). Rennes, France, s. 431-433.
- Pirie, N. W. 1971. Leaf protein: Its agronomy, preparation, quality and use. International Biological Programme, London, 192 s.
- Pirie, N. W. 1978. Leaf protein and its By-products in Human and Animal Nutrition. Cambridge University Press, New York. 1987. 379 s.

Poppi, D. B., Norton, B. W., Minson, D. J. & Hendricksen, R.W. 1980. The validity of the critical particle size theory for particles leaving the rumen. *Journal of Agricultural Science* 94: 275-280.

Prestlökken, E. & Harstadt, O. M. 2019. Wood products as emergency feed for ruminants. (Proceedings of the 10th Nordic Feed Science Conference, 12-13 June 2018, Uppsala, Sweden. Report 302). Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Nutrition and Management. s. 75-78.

Raymond, W. F., Harris, C. E. 1957. The value of fibrous residue from leaf protein extraction as a feeding-stuff for ruminants. *Journal of British Grassland Society* 12: 166-170.

Rinne, M. 2000 Influence of the timing of the harvest of primary grass growth on herbage quality and subsequent digestion and performance in the ruminant animal. Academic dissertation. University of Helsinki, Department of Animal Science Publication 54. 42 s.

Rinne, M., Huhtanen, P. & Jaakkola, S. 1997. Grass maturity effects on cattle fed silage-based diets. 2. Cell wall digestibility, digestion and passage kinetics. *Animal Feed Science and Technology* 67: 19-35.

Rinne, M., Jaakkola, S., Kaustell, K., Heikkilä, T. & Huhtanen P. 1999. Silages harvested at different stages of grass growth v. concentrate foods as energy and protein sources in milk production. *Animal Science* 69: 251-263.

Rinne, M., Huhtanen, P. & Nousiainen, J. 2008. Karkearehujen sulavuuden määrittäminen on tarkentunut. *Maataloustieteen päivät 2008*. Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote 24. s. 1-11.

Rinne, M., Huhtanen, P. & Jaakkola, S. 2002. Digestive processes of dairy cow fed silages harvested at four stages of grass maturity. *Journal of Animal Science* 80: 1986-1998.

Rinne, M, Kautto, O., Kuoppala, K. Ahvenjärvi, S. Kitunen, V., Ilvesniemi, H., Willför, S. & Sormunen-Cristian, R. 2016. Digestion of wood-based hemicellulose extracts as screened by in vitro gas production method and verified in vivo using sheep. *Agricultural and Food Science* 25: 13-21.

Rinne, M., Jalava, T., Stefanski, T., Kuoppala, K., Timonen, P., Winquist, E. & Siika-aho, M. 2018a. Optimizing grass silage quality for green biorefineries. 27th European Grassland Federation General Meeting, Cork, Ireland. Available at: www.europeangrassland.org

Rinne, M., Keto, L., Siljander-Rasi, H., Stefanski, T. & Winquist, E. 2018b. Grass silage for biorefinery – Palatability of silage juice for growing pigs and dairy cows. XVIII International Silage Conference, Bonn, Germany. Available at: www.isc2018.de

Rinne, M., Timonen, P., Stefanski, T., Franco, M., Vainio, M., Winquist, E. & Siika-aho, M. 2018c. Grass silage for biorefinery – Effects of type of additive and separation method (Proceedings of the XVIII International Silage Conference, 24-26 July 2018, Bonn, Germany) Gerlach, K & Südekum, K-H. (toim). 182-193 s.

Rinne, M. & Kuoppala, K. 2019. Feeds from forests? Proceedings of the 10th Nordic Feed Science Conference, June 11-12 2019, Uppsala, Sweden. Report 302. Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Nutrition and Management. Larsen, P. F., Møller, S. H., Clausen, T., Hammer, A. S., Lássen, T. M., Nielsen, V. H, Tauson, A. H. Jeppesen, L. L., Hansen, S. H., Elnif, J. & Malmqvist, J. (toim) s. 79-86.

Rinne, M. & Franco, M. 2019. Protein quality of grass silage affected by management factors. (18th International Symposium Forage Conservation, 13 - 16 August 2019, Brno, Czech Republic). s. 138-149. ISBN 978-80-7509-670-8

Rinne, M, Winquist, E., Pihlajaniemi, V., Niemi, P., Seppälä, A. & Siika-aho, M. 2020. Fibrolytic enzyme treatment prior to ensiling increased press-juice and crude protein yield from grass silage. *Bioresources Technology* 299: 122572, [doi:10.1016/j.biortech.2019.122572](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122572)

Saarinen, P, Jensen, W. & Alhojärvi, J. 1959. On the digestibility of high yield chemical pulp and its evaluation. *Acta Agrculturae Fenniae*. 94: 41-64.

Salo, T., Euroola, M., Rinne, M., Seppälä, A., Kaseva, J. & Kousa, T. 2014. The effect of nitrogen and phosphorus concentrations on nutrient balances of cereals and silage grass. *MTT Report* 147: 36 p. Available at: <http://jukuri.luke.fi/bitstream/handle/10024/482918/mtrraportti147.pdf>

Shinners, K.J., Koegel, R. G. & Straub, R.J. 1987. Drying rates of macerated alfalfa mats. *Trans. ASAE* 30: 909-912.

Sitra 2014. Kestävää kasvua biotaloudesta - Suomen biotalousstrategia.

<http://www.ym.fi/download/noname/%7b02065007-F535-442F-A4A6-7369F31A1206%7d/99269>.

- Sjaunja, L.O., Baevre, L., Junkkarinen, L., Pedersen, J. & Setälä J. 1990. A Nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. Teoksessa: Proc. 27th session on Intern. Committee of Recording and productivity of Milk Animal. Paris. France, s. 156-157.
- Sjöström, E. 1993. Wood chemistry: Fundamentals and applications. 2nd ed. USA: Academic Press. 293 s.
- Stefański, T., Välimaa, A-L., Kuoppala, K., Jalava, T., Paananen, P. & Rinne, M. 2018. *In vitro* ruminal degradation rate and methane production of different fraction of microcrystalline cellulose (MCC). Proceedings of the IXth Nordic Feed Science Conference, June 12-13 2018, Uppsala, Sweden. Uden, P., Eriksson, T., Spörndly, R., Rustas, B-O. & Liljeholm, M. (toim). s. 87–93.
- Sutherland, T.M. 1988. Particle separation in the forestomach of sheep. Teoksessa: Dobson, A. & Dobson, M.J. (toim.) Aspects of Digestive Physiology in Ruminants. Cornell University press, Ithaca, New York. s. 43-73.
- Stødkilde, L., Damborg, V. K, Jørgensen, H., Lærke, H. N. & Jensen, S.K. 2018. White clover fractions as protein source for monogastrics: Dry matter digestibility and protein digestibility -corrected amino acid scores. Journal of the Science of Food and Agriculture 98: 2557-2563.
- Takigawa, A. 1987. Feeding value of steamed wood and explosively depressurized wood. Japan Agricultural Research Quarterly, Vol 20, No. 4. 282-291.
- Tampio, E., Winqvist, E., Luostarinen, S. & Rinne, M. 2019. A farm-scale grass biorefinery concept for combined pig feed and biogas production. Water Science & Technology 80: 1042-1052.
- Tesfa, A.T, Tuori, M., Syrjälä-Qvist, L. & Kaustell, K. 1992. Effects of partial replacement of barley with rapeseed oil or birch wood in comparison to barley and oats on the performance and blood metabolites of lactating cows. Agricultural and Food Science 1: 225-265.
- Van Keulen, J. & Young, B. A. 1977. Acid insoluble ash as a natural marker for digestibility studies. Journal of Animal Science 44: 282–287.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. New York: Cornell University Press. 476 s.
- Vanhatalo, K. 2017. A new manufacturing process for microcrystalline cellulose (MCC). Aalto University publication series, Doctoral dissertations 152/2017. 172 s.

- Vanhatalo, K. M. & Dahl, O. P. 2014. Effect of mild acid hydrolysis parameters on properties of microcrystalline cellulose. *BioResources* 9: 4729–4740.
- Virtanen, A. I. 1966. Milk production of cows fed protein-free feed. *Science* 153: 1603-1614.
- Waldo, D. R. 1969. Factors influencing the voluntary intake of forages. Teoksessa: Barnes (toim.) Proceedings of the National Conference on Forage Quality Evaluation and Utilization. Nebraska Center for continuing education, Lincoln. September 3-4. P. E1-E21.
- Waldo, D. R., Smith, L. W. and Cox, E. L. 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. *Journal of Dairy Science* 55: 125-129.
- Wattiaux, M. A., Satter, L. D. & Mertens, D. R. 1993. Factors affecting volume and specific gravity measurements of natural detergent fibre and forage particles. *Journal of Dairy Science* 76: 1978-1988.
- Weisbjerg, M.R, Waldemar, P., Hellewing, A. L. F. & Kristensen, T. 2018. Can we increase digestibility of green forages by physical treatment before ensiling? Proceedings of the IXth Nordic Feed Science Conference, June 12-13 2018, Uppsala, Sweden. Uden, P., Eriksson, T., Spörndly, R., Rustas, B-O. & Liljeholm, M. (toim.) s. 15-22.
- Wilkinson, J. M. & Rinne, M. 2018. Highlights of progress in silage conservation and future perspectives. *Grass and Forage Science* 73:40-52.
- Willför, S., Sundberg, A., Hemming, J. & Holmblom, B. 2005. Polysaccharides in some industrially important softwood species. *Wood Science and Technology* 39: 245-258.
- Volden, H. 1999. Effects of feeding level and ruminally undegraded protein on ruminal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestinal amino acid profile and performance of dairy cows. *Journal of Animal Science* 77: 1905-1918.
- Wu, W., Xie, J. & Zhang, H. 2016. Dietary fibres influence the intestinal SCFAs and plasma metabolites profiling in growing pigs. *Food & Function* 7: 4644-4654.
- YK 2019. World Population Prospects 2019. United Nations. Department of Economic and Social Affairs.
- Zelenak, I., Boda, K., Bucko, J., Jalc, D., Walko, T. & Beseda, I. 1979. Wood molasses in the Nutrition of Ruminants. *Annales De Recherches Veterinaires* 10: 457-459.

Zinn, R.A. 1990. Feeding value of wood sugar concentrate for feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 68: 2598-2602.

Zinn, R. A. 1993. Comparative Feeding Value of Wood Sugar Concentrate and Cane Molasses for Feedlot Cattle. *Journal of Animal Science* 71: 2297-2302.

Xiu, S. & Shahbazi, A 2015. Development of Green Biorefinery for Biomass Utilization: A review. *Trends in Renewable Energy* 1: 4-15.