

LIHAROTUISEN NAUDAN (*Bos taurus*)  
LIHAN RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN JA  
E-VITAMIINIPITOISUUTEEN  
VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

Helena Kämäräinen  
Pro gradu -tutkielma  
Elintarvikebiotekniikka  
Biotieteiden laitos  
Luonnontieteiden ja metsätieteiden  
tiedekunta  
Itä-Suomen yliopisto, Kuopio  
Heinäkuu 2011

ITÄ-SUOMEN YLIOPISTO, Luonnontieteiden ja metsätieteiden tiedekunta, KUOPIO

Biotieteiden laitos

Elintarvikebiotekniikka

KÄMÄRÄINEN, RIITTA HELENA: Liharotuisen naudän (*Bos taurus*) lihan rasvahappokoostumukseen ja E-vitamiinipitoisuuteen vaikuttavat tekijät

Pro gradu, 59 s, 2 liitettä (2 sivua)

Ohjaajat: FT Jenni Korhonen, Itä-Suomen yliopisto ja FM Tiina Tolonen, Oulun yliopisto  
Heinäkuu 2011

---

Avainsanat: rasvahappo, E-vitamiini, liharotuinen nauta, lihaksen sisäinen rasva

Naudanlihan rasvahappokoostumusta pidetään huonona sen sisältämien tyydyttyneiden rasvahappojen vuoksi. Kuluttajat mieltävät naudanlihan rasvan olevan kokonaan tyydyttynyttä, kovaa rasvaa. Kuitenkin naudanlihan rasvasta on noin puolet kerta- ja monitydytty-mättömiä rasvahappoja. Naudanlihan rasvassa voi n-6/n-3 -rasvahappojen suhde olla hyvä. Naudanlihan rasvan koostumukseen vaikuttaa eläimen ikä teurastettaessa, rotu, ruokinta ja rasvan sijainti ruhossa. Näistä ruokinnalla on suurin merkitys, vaikka märehitjän pötsimikrobisto tekeekin ruokinnan avulla vaikuttamisen lihan rasvahappokoostumukseen vaikeammaksi kuin yksimahaisilla tuotantoeläimillä. Ruokinnan energiaväkevyys vaikuttaa eläimen rasvoittumiseen ja kasvuun. Ruokinnan väkirehu:karkearehu -suhteella ja erilaisilla öljy sisältävillä rehuilla on merkitystä lihan rasvahappokoostumukseen.

Tässä tutkimuksessa selvitettiin, vaikuttaako 20 % tai 50 % väkirehutaso ja rypsiivitelisä naudän *Longissimus dorsi* -lihaksen (ulkofile) sisäisen rasvan koostumukseen ja määrään ja lihan alfatokoferolipitoisuuteen (E-vitamiini). Tutkimuksessa oli kaksi Suomessa yleistä liharotua: hereford- ja charolaisrotu. Nämä rodut valittiin edustamaan suhteellisen aikaisin ja myöhään sukukypsyiden saavuttavia rotuja ja karkearehuvaltaisella ja väkirehuvaltaisella ruokinnalla kasvavia rotuja. Teuraseläimet tulivat ruokintakokeesta Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen Ruukin toimipaikasta. Aineistossa on kahden eri kasvatusryhmän eläimet. Ensimmäinen kasvatusryhmä on vuoden 2008 syksyllä ja toinen vuoden 2009 syksyllä ruokintakokeeseen tulleita eläimiä. Herefordeläimissä on kuuden ja charolaiseläimissä kahdeksan eri astutussonnin jälkeläisiä. Ruokintakoe toteutettiin 2x2x2 faktoriaalisena kookena, jossa muuttujina ovat rotu, väkirehutaso ja rypsiilä. Havaintoyksikkönä on eläin. Rehuina ruokintakokeessa oli timoteisäilörehu, ohra ja rypsiiviste, täydennyksenä eläimet saivat kivennäistä ja vitamiinilisän. Lihan sisäisen rasvan rasvahappokoostumus ja -määrä analysoitiin kaasukromatografisesti ja lihan alfatokoferolin määrä korkean erotuskyvyn nestekromatografilla (HPLC). Rehuista tutkittiin säilörehun rasvahappojen osuudet.

Rodulla oli erittäin merkitsevä vaikutus öljy- (C18:1 n-9), vakseeni- (C18:1 n-7), linoli- (C18:2 n-6), alfa-linoleeni- (C18:3 n-3), gamma-linoleeni- (C18:3 n-6) ja palmitoleiinihapon (C16:1 n-7) suhteellisiin osuuksiin sekä hyvin merkitsevä vaikutus alfa-linoleeni- (C18:3 n-3) määrään ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen. Väki-rehutasolla oli erittäin merkitsevä vaikutus alfa-linoleeni- (C18:3 n-3), pentadekanoini- (C15:0) ja heptadekaanihapon (C17:0) suhteellisiin osuuksiin ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen. Väki-rehutaso vaikutti erittäin merkitsevästi linoli- (C18:2 n-6), hyvin merkitsevästi öljy- (C18:1 n-9) ja gamma-linoleeni- (C18:3 n-6) ja merkitsevästi steariinihapon (C18:0) määrään sekä rasvahappojen yhteismäärään. Rypsiivitelisä vaikutti erittäin merkitsevästi palmitiinihapon (C16:0) suhteelliseen osuuteen. Alfatokoferolin pitoisuuteen ei ollut rodulla eikä väki-rehutasolla ja rypsiivitelisillä vaikutusta. Tämän tutkimuksen perusteella voidaan päätellä, että rotuvalinnalla ja ruokinnalla voidaan vaikuttaa lihaksen sisäisen rasvan määrään ja koostumukseen.

UNIVERSITY OF EASTERN FINLAND, Faculty of Science and Forestry  
Department of Biosciences  
Food Biotechnology

KÄMÄRÄINEN, RIITTA HELENA: Factors affecting the fatty acid composition and vitamin E content of beef (*Bos taurus*)

Master's Thesis, 59 pages, 2 appendix (2 p.)

Supervisors: PhD Jenni Korhonen, UEF and M. Sc. Tiina Tolonen, UO

July 2011

---

Keywords: fatty acid, vitamin E, beef, intramuscular fat

In this study the effects of 20 % and 50 % concentrate feed levels and rapeseed concentrate supplementation on the amount and composition of intramuscular fat and alpha-tocopherol (vitamin E) content *Longissimus dorsi muscle* (steak) of beef were examined. Two common breeds in beef production in Finland were used for testing: hereford and charolais. These breeds were chosen to represent a relatively early (hereford) and late (charolais) maturity and high forage feeding (hereford) and high concentrate feeding (charolais). Animals used in experimentation were raised in a feeding experiment in Agrifood Research Centre's experimental farm at Ruukki, Finland and contained two different breeding groups, the first consisting animals attending the feeding experiment in autumn 2008 and the second animals attending the experiment in autumn 2009. Hereford animals were offsprings of six different bulls while charolais animals were offsprings of eight bulls. The feeding experiment was carried out as a 2x2x2 factorial experiment, in which the variables were the breed, the level of concentrate feed and rapeseed concentrate supplementation. The observation unit is an animal. As feed in the feeding experiment silage of timothy of, barley and rapeseed concentrate were used, and as supplement the animals were given minerals and vitamins. The fatty acid composition in intramuscular fat of meat were analyzed using gas chromatography methods and the amount of alpha-tocopherol (vitamin E) in meat using high performance liquid chromatography (HPLC) methods. Feed was studied in proportions of fatty acids in silage.

Breed had an extremely significant effect on relative proportions of oleic acid, vaccenic acid, linoleic acid, alpha-linolenic acid, gamma linolenic acid, and palmitoleic acid and a very significant impact on the amount of alpha-linolenic acid and n-6/n-3 fatty acid ratio. The level of concentrate had an extremely significant effect on relative shares of alpha-linolenic acid, pentadecanoic acid, heptadecanoic acid, and the n-6/n-3 fatty acid ratio. The level of concentrate had an extremely significant impact on the amount of linoleic acid, and a very significant impact on amount of oleic acid and gamma linolenic acid, and a significant impact on total amount of fatty acids and stearic acid amount. Rapeseed concentrate supplementation influenced extremely significantly to the relative proportion of palmitic acid. Breed, rapeseed concentrate supplementation and concentrate level had no effect on alpha-tocopherol concentration. According to this study, the choice of breed and feeding can significantly affect intramuscular fat quantity and composition.

## Sisällysluettelo

<b>1</b>	<b>JOHDANTO</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>NAUDANLIHAN RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT</b>	<b>7</b>
2.1	MÄREHTIJÄN RASVAMETABOLIA	7
2.1.1	<i>Lipolyysi ja biohydrogenaatio</i>	7
2.1.2	<i>Rasvahappojen imeytyminen ohutsuolesta ja rasvojen synteesi rasvakudoksessa</i>	9
2.2	RUOKINNAN VAIKUTUS LIHAN RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN	10
2.2.1	<i>Karkearehu-väkirehu -suhde</i>	10
2.2.2	<i>Öljyä sisältävän lisärehun vaikutus</i>	11
2.3	RODUN VAIKUTUS LIHAN RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN	12
2.4	SÄILÖREHUN RASVAHAPPOKOOSTUMUS	14
2.4.1	<i>Kasvilaji ja lajikkeet</i>	15
2.4.2	<i>Niittoajankohta ja lannoitus</i>	16
2.4.3	<i>Esikuivatus ja säilöntä</i>	17
<b>3</b>	<b>NAUDANLIHAN E-VITAMIINIPITOISUUTEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT</b>	<b>18</b>
3.1	NAUDAN E-VITAMIINIMETABOLIA	18
3.2	NAUDAN RUOKINNAN E-VITAMIININ LÄHTEET	18
3.3	NAUDANLIHAN E-VITAMIINIPITOISUUS	19
<b>4</b>	<b>AINEISTO JA MENETELMÄT</b>	<b>20</b>
4.1	LIHANÄYTTEET	20
4.2	SÄILÖREHUNÄYTTEET	22
4.3	LIHAN RASVAHAPPOANALYYSI	23
4.3.1	<i>Esikäsittely ja happohydrolyysi</i>	23
4.3.2	<i>Eetteriuutto</i>	24
4.3.3	<i>Metylointi</i>	24
4.3.4	<i>Rasvahappojen analysointi kaasukromatografilla</i>	24
4.4	LIHAN ALFATOKOFEROLIANALYYSI	26
4.5	SÄILÖREHUN RASVAHAPPOANALYYSI	27
4.6	TILASTOLLINEN ANALYYSI	28
<b>5</b>	<b>TULOKSET</b>	<b>29</b>
5.1	LIHAN RASVAHAPPOKOOSTUMUS	29
5.2	LIHAN E-VITAMIINIPITOISUUS	36
5.3	SÄILÖREHUN RASVAHAPPOKOOSTUMUS	39
<b>6</b>	<b>TULOSTEN TARKASTELU</b>	<b>41</b>
6.1	RODUN VAIKUTUS LIHAN RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN	41
6.2	RUOKINNAN VAIKUTUS LIHAN RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN	43
6.3	RODUN JA RUOKINNAN VAIKUTUS LIHAN E-VITAMIINIPITOISUUTEEN	46
6.4	SÄILÖREHUN RASVAHAPPOKOOSTUMUS	47
<b>7</b>	<b>YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET</b>	<b>48</b>
	<b>LÄHDELUETTELO</b>	<b>49</b>
	<b>LIITTEET</b>	<b>57</b>
	TAULUKKO 12	58
	TAULUKKO 13	59

## 1 JOHDANTO

Naudanlihantuotanto on perustunut Suomessa lypsykarjojen tuottamien sonnien ja poistolehmien ja -hiehojen lihaan. 2000-luvulla on emolehmätuotanto lisääntynyt voimakkaasti Suomessa (Tike 2011). Emolehmä poikii kerran vuodessa ja imettää vasikkaansa noin puoli vuotta, jonka jälkeen vieroitettu vasikka siirtyy lihaksi kasvatettavaksi eläimeksi. Suomessa on useita emolehmärotuja. Tähän tutkimukseen valittiin hereford- ja charolaisrotut. Herefordrotu on karkearehuvaltaisen ruokinnan ja suhteellisen aikaisin sukukypsyyden saavuttavien rotujen edustaja ja charolaisrotu väkirehuvaltaisen ruokinnan ja myöhään sukukypsyyden saavuttavien rotujen edustaja (Pesonen 2011).

Naudanlihan rasvaa on pidetty huonona sen sisältämän tyydyttyneen rasvan vuoksi. Kuluttajat mieltävät naudanlihan rasvan olevan kokonaan kovaa, tyydyttyntä rasvaa. Kuitenkin naudanlihan rasvasta lähes puolet on kerta- ja monityydyttymätöntä rasvaa ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhde voi olla hyvä (Givens ym. 2006). Ihmisen ravitsemuksessa n-6/n-3 -rasvahappojen suhteella on merkitystä. Suhteen tulisi olla alle neljän ja mieluiten lähellä yhtä. (Simopoulos 2002; Simopoulos 2004.)

Naudan oikeutusta osana ravintoketjua kritisoidaan sen röyhtäilemän metaanin vuoksi. Ilmastomuutos ja naudanliha kytetään usein toisiinsa (Dyer ym. 2010). Nauta on kuitenkin ainutlaatuinen eläin, joka kykenee käyttämään pelkkää karkearehua ravintonaan. Laidunukseen tai karkearehuun perustuvan ruokinnan ilmastovaikutus on edullinen (Wolf ym. 2010). Vain märehijä pystyy tekemään hyvin korkealaatuista ja biologiselta arvoltaan lähellä yhtä olevaa valkuaista heinä- ja palkokasveista. Tähän eivät yksimahaiset eläimet pysty, vaan niiden on saatava itse hyvää valkuaisrehua kyetäkseen tuottamaan ihmisen tarvitsemat aminohapot tuotteissaan. Valkuaisen biologinen arvo kuvaa sitä, miten hyvin tuotteen aminohapot vastaavat ihmisen tarvitsemia aminohappoja. Näin märehijät ovat korvaamattomia eläimiä muuttaessaan sellaisen maa-alueen kasvuston ihmiselle soveltuvaksi, korkealaatuiseksi ravinnoksi, jolla ei kasva suoraan ihmiselle käytettäviä tuotteita, esim. viljaa tai palkoviljoja (Wilkinson 2011).

Perinteisesti on pidetty hyvänä tuottaa naudanlihaa nopeakasvuilla, hyvin vähän rasvoituilla eläimillä. Suomalainen naudan teurashinnoittelu suosii isoja rotuja, jotka eivät rasvoitu. Suomessa ei käytetä lainkaan lihan syömislaatua ja lihan marmoroitumista teuraiden tuottajainnoittelussa. Naudan rasvoittumiseen vaikuttaa ruokinta, rotu, eläimen ikä teurastettaessa ja sukupuoli. Naudan rasvan koostumukseen vaikuttaa myös ruokinta, rotu, ikä teurastettaessa ja rasvan sijainti ruhosssa. Aikaisin sukukypsyyssikään tulevat rodut rasvoittuvat hietaasti kypsyviä rotuja helpommin ja nuoremmalla iällä (Pesonen 2011).

Karkearehuvaltainen ruokinta, joka perustuu hyvän sulavuuden ja säilöntälaadun omaavaan säilörehuun tai laidunruohoon, parantaa lihan rasvahappokoostumusta ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhdetta. Tässä tutkimuksessa selvitettiin, miten vaikuttaa lihan rasvahappokoostumukseen ja alfatokoferolipitoisuuteen suomalaisessa naudanruokinnassa yleisesti tavattava 50 % väkirehutaso verrattuna 20 % väkirehutasoon kahdella eri liharotutyypillä. Vertailussa oli mukana myös rypsiiviste, jota käytetään naudan valkuaistarpeen takia ruokinnassa. Rypsiivisteessä on rasvaa 4,5 %, jonka merkitystä naudanlihan rasvahappokoostumukseen tutkittiin.

Kun lihan tyydyttymättömien rasvahappojen osuus kasvaa, muuttuu liha herkästi pilaantuvaksi. Lihan alfatokoferolin (E-vitamiini) määrän suhde eikosanpentaeni- (C20:5 n-3) ja dokosaheksaenihapon (C22:6 n-3) pitoisuuteen vaikuttaa lihan rasvojen härskiintymisalttiuteen (Mahecha ym. 2009). Tässä tutkimuksessa selvitettiin lihan alfatokoferolipitoisuutta ja rodun, väkirehutason ja rypsiivistelisen vaikutusta alfatokoferolipitoisuuteen.

Säilörehu on suomalaisessa naudanlihantuotannossa tärkeä rehu. Säilörehussa on yleensä eniten alfa-linoleenihappoa (C18:3 n-3), seuraavaksi eniten linolihappoa (C18:2 n-6) ja palmiitiinihappoa (C16:0) (Dewhurst ym. 2001). Tässä tutkimuksessa mitattiin kahden eri ruokintakokeen aikana kerättyjen säilörehunäytteiden kolmen yleisimmän rasvahapon pitoisuudet.

## 2 NAUDANLIHAN RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

Naudanruhon rasvoittumiseen ja naudanlihan rasvahappokoostumukseen vaikuttaa eläimen ikä, ruokinta sekä rotu. Ruokinnalla on suurin vaikutus (Smith ym. 2009; Garcia ym. 2008). Kuitenkin Mannenin (2011) katsauksen mukaan märehitjoiden ruokinnalla on merkittävästi pienempi vaikutus lihan rasvahappokoostumukseen kuin yksimahaisilla. Märehitjoiden rehunsulatus perustuu mikrobien tekemään pötsihajotukseen (Maynard ym. 1979), joten ruokinnan vaikutus lihan ja maidon koostumukseen on vaikeampi ennustaa kuin yksimahaisilla tuotantoeläimillä. Karkearehulla on suomalaisessa naudanlihantuotannossa suuri merkitys ruokinnassa. Märehitjoiden ruokinnassa käytettävän karkearehun kasvilajit ja kasvien rasvahappokoostumus vaikuttavat eläinten lihan ja maidon rasvahappokoostumukseen (Lourenço ym. 2008). Dervishi ym. (2011) totesivat ruokinnan vaikuttavan myös rasvametaboliaan vaikuttavien geenien ilmentymiseen.

### 2.1 Märehitjän rasvametabolia

Märehitjän rasvametabolia poikkeaa yksimahaisten rasvametaboliasta pötsin mikrobien tekemän rehunsulatuksen vuoksi (Boufaïed ym. 2003b). Yksimahaisten omat ruoansulatusentsyymit alkavat hajottaa lipidejä, mutta märehitjällä ensisijaisesti pötsimikrobiston lipaasit ja osittain rehussa olevat lipaasit aloittavat lipidien hajotustyön (Jenkins 1993).

#### 2.1.1 Lipolyysi ja biohydrogenaatio

Rehussa pötsiin tulevat lipidit joutuvat pötsimikrobien lipaasientsyymien hydrolysoimiksi (Harrison & Leat 1975; Dawson ym. 1977). Lopputuotteena lipolyysistä syntyy vapaita rasvahappoja (FFA) ja glyserolia. Lourençon ym. (2010) kirjallisuuskatsauksen mukaan myös kasvien omat lipaasientsyymit toimivat vielä pötsin olosuhteissa. Ne hajottavat kasvien solukalvojen galaktolipidit ja fosfolipidit rasvahapoiksi ja glyseroliksi sekä mono- tai diglyseroleiksi.

Biohydrogenaatiossa pötsimikrobien entsyymit (isomeraasit, reduktaasit) lisäävät vetyä monitydyttymättömien rasvahappojen kaksoissidoksiin muuttaen ne tyydyttyneiksi rasvaha-

poiksi. Alfalinoleenihaposta (C18:3 n-3) ja linolihaposta (C18:2 n-6) syntyy steariinihappoa (C18:0) ja välivaiheena mm. konjugoitua linolihappoa (CLA eli C18:2 c-9,t-11) ja vakseenihappoa (C18:1 n-7). (Jenkins ym. 2008.)

Hyvin suuri osa pötsiin tulevista tyydyttymättömistä rasvahapoista joutuu biohydrogenaation kohteeksi. Scollan ym. (2003) laskivat, että 79,9 % linolihaposta (C18:2 n-6) ja 90,5 % alfalinoleenihaposta (C18:3 n-3) muuttui steariinihapoksi (C18:0) tai muiksi biohydrogenaation välituotteiksi. Dewhurst ym. (2003) arvioivat linolihaposta (C18:2 n-6) hydrautuvan 70 – 95 % ja alfalinoleenihaposta (C18:3 n-3) 85 – 100 %. Myös pötsimikrobeissa on rasvaa, määrä on 15 g/kg sulavaa orgaanista ainetta (Jenkins 1993).

Pötsimikrobistossa on bakteereita, arkkeja, alkueläimiä ja hiivoja. Bakteereista *Butyrivibrio*-lajien lipaasit hydrolysoivat fosfo- ja galaktolipidejä, joita on karkearehuista laidunruohossa. *Anaerovibrio lipolytica* on bakteeri, jonka lipaasientsyymi hydrolysoi triglyseridejä, joita on puolestaan viljojen ja öljykasvien lipideissä. Alkueläimet eivät ole aktiivisia biohydrogenaatioissa, mutta ne osallistuvat biohydrogenaatioon syömällä bakteereita ja kasvien kloroplasteja. Tämän seurauksena alkueläimissä on korkeampi tyydyttymättömien rasvahappojen pitoisuus kuin bakteereissa. (Lourenço ym. 2010.)

Rasvojen suojaus pötsin mikrobien lipolyysiltä ja biohydrogenaatiolta on eräs keino vaikuttaa lihan ja maidon rasvahappokoostumukseen. Noci ym. (2011) käsittelivät ruistankion eli kitupellavan (*Camelina sativa*) ja pellavan (*Linum usitatissimum*) kokonaisia siemeniä natriumhydroksidilla (NaOH). Vaikutus oli merkittävä käsitellyillä siemenillä (NaOH-käsitellyt pellavansiemenet) ruokittujen lampaiden lihan rasvahappokoostumukseen: monitydyttymättömien rasvahappojen suhde tyydyttyneisiin nousi 0,18:sta 0,21:een ( $p < 0,001$ ) verrattaessa käsittelemättömien pellavansiemenien antamiseen ruokinnassa.

Biohydrogenaatioon on yritetty vaikuttaa erilaisilla rehun lisäaineilla, esimerkiksi kitosaanilla, joka on kitiinistä asetyyliryhmien poistolla saatu aines. Goiri ym. (2010) huomasivat kitosaanin estävän tehokkaasti biohydrogenaation etenemisen konjugoidun linolihapon (CLA eli C18:2 c9,t11) kautta steariinihapoksi (C18:0). He saivat *trans*vakseenihapon (C18:1 t-11) ja muiden CLA-isomeerien määrän lisääntymään steariinihapon (C18:0) kustannuksella riippu-



matta rasvahapolähteestä. Tanniineilla on myös biohydrogenaatiota hillitsevä vaikutus muuttamalla pötsimikrobiston koostumusta (Vasta ym. 2008; Vasta ym. 2010).

Merkittäviä eroja maidon ja lihan rasvahappokoostumukseen on saatu ruokittaessa märehitj<sup>1</sup>öitä apilaa sisältävällä rehulla. Apilassa on polyfenolioksidaasi-entsyymiä, joka suojaaa kasvis- ja myöhemmin pötsissä pitkäketjuisia rasvahappoja hajotukselta. Van Ranstin ym. (2011) yhteenvedon mukaan apilan vaikutus voisi perustua joihinkin seuraavista kolmesta seikasta: i) proteiiniin sitoutuvat fenolit sitoutuessaan biohydrogenaation aiheuttaviin entsyymeihin ehkäisisivät biohydrogenaation, ii) proteiinien sisällä ja välillä olevat kinonit voivat kapseloida lipidejä ehkäisten biohydrogenaation tai iii) kinonien suora sitoutuminen lipidien polaariin kohtiin voisi suojata biohydrogenaatiolta.

#### 2.1.2 Rasvahappojen imeytyminen ohutsuolesta ja rasvojen synteesi rasvakudoksessa

Märehitj<sup>1</sup>öillä ohutsuoleen tulee lähes pelkästään vapaita rasvahappoja toisin kuin yksimahaisilla, joilla ohutsuoleen tulee hajoamatonta rasvaa, esimerkiksi triglyseridejä (Harrison & Leat 1975). Bauman ym. (2003) arvioivat märehitj<sup>1</sup>öillä 80 – 90 % ohutsuoleen tulevasta rasvasta olevan vapaina rasvahappoina. Lockin ym. (2006) mukaan lypsylehmillä ohutsuoleen tulee keskimäärin 858 g vapaita rasvahappoja vuorokaudessa. Näistä lähes puolet on steariinihappoa (C18:0, 397 g) ja vain 56 g linolihappoa (C18:2 n-6) ja 9 g alfa-linoleenihappoa (C18:3 n-3). Ohutsuoleen tulevien rasvahappojen määrä voi olla isompi kuin rehussa pötsiin tulevien rasvahappojen määrä, tähän on syynä mikrobien tekemä rasvasynteesi (Jenkins 1993).

Ohutsuolesta rasvahappojen imeytyminen tapahtuu sappi- ja haimanesteiden avulla. Sappinesteestä tulee sappihappoja ja lesitiiniä. Haimanesteestä saadaan bikarbonaattia, joka nostaa ruokasulan pH:ta ja entsyymiä, joka muuttaa lesitiinin lysolesitiiniksi. Märehitj<sup>1</sup>ällä samoin kuin yksimahaisilla rasvahapot imeytyvät vesiliukoisten misellien avulla suolinukan läpi verenkiertoon. (Bauman ym. 2003.)

Märehitj<sup>1</sup>öillä ohutsuolesta rasvakudokseen siirtyvistä steariinihaposta (C18:0) ja vakseenihaposta (C18:1 n-7) tehdään rasvakudoksessa  $\Delta^9$ -desaturaasientsyymillä (stearoyyli-KoA-desaturaasi -entsyymi) avulla öljyhappoa (C18:1 n-9) tai konjugoitua linolihappoa (CLA eli

C18:2 c9,t11) (Vasta ym. 2009). Märehtijän rehunsulatuksen päätuote pötsissä on etikkahappo (C2:0) (Maynard ym. 1979). Etikkahappo kulkeutuu pötsin seinämän läpi ja siirtyy verenkierron mukana rasvakudokseen, jossa se toimii lähtöaineena monelle eri rasvahapolle (Huhtanen 1997).

## 2.2 Ruokinnan vaikutus lihan rasvahappokoostumukseen

Naudanlihan rasvahappokoostumukseen on pyritty vaikuttamaan karkearehun ruokinnallisen osuuden, karkearehun kasvilajien, laidunnuksen ja erilaisten öljylijien avulla. Ruokintakokeissa on todettu säilörehun ja laidunrehun osuuden vaikuttavan erityisesti n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen, konjugoidun linolihapon (CLA eli C18:2 c9,t11) ja vakseenihapon (C18:1 n-7) määriin ja tyydyttyneiden sekä kertatyydyttymättömien rasvahappojen määriin. (Warren ym. 2008; Nuernberg ym. 2005; Daley ym. 2010.)

### 2.2.1 Karkearehu-väkirehu -suhde

Smithin ym. (2009) mukaan voimakas väkirehuruokinta lisää  $\Delta^9$ -desaturaasientsyymin aktiivisuutta rasvakudoksessa, minkä seurauksena öljyhapon osuus lihan rasvahapoista kasvaa väkirehuvaltaisella ruokinnalla. Lisäksi väkirehuvaltainen ruokinta laskee pötsin pH:ta ja tämä puolestaan vähentää biohydrogenaatiota pötsissä. Smith ym. (2009) arvioivat yhteisvaikutuksen pötsin pH:n alenemiselle ja  $\Delta^9$ -desaturaasientsyymin aktiivisuuden lisääntymiselle olevan edullinen kertatyydyttymättömien rasvahappojen määrän kasvamisen vuoksi, vaikka samalla monitydyttymättömien rasvahappojen määrä vähenee ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhde heikkenee. Samoin saivat Faucitano ym. (2008) öljyhapon suhteellisen osuuden nousemaan 31 %:sta noin 35 %:iin väkirehutason noustessa 40 %:iin ja 70 %:iin nollatasosta. Heidän tutkimuksessaan ei ollut eroa öljyhapon määrässä 40 %:n ja 70 %:n väkirehutasoilla. He havaitsivat ilman väkirehua ruokittujen eläinten lihassa olevan merkittävästi enemmän konjugoitua linolihappoa (C18:2 c9,t11) kuin 40 % tai 70 % väkirehua saaneilla.

Warrenin ym. (2008) tutkimuksessa pelkällä säilörehulla ruokittujen eläinten lihan rasvahappokoostumuksessa oli alhaisempi n-6/n-3 -rasvahappojen suhde kuin olki-väkirehuruokinnalla (30:70) olleilla eläimillä. Esimerkiksi herefordotuisilla 19 kk:n iässä teu-

rastetuilla eläimillä oli n-6/n-3 -rasvahappojen suhde 14,3 olki-väkirehuruokituilla ja 1,2 säilörehulla ruokituilla. Toisaalta olki-väkirehuruokituilla eläimillä oli korkeampi konjugoidun linolihapon (CLA eli C18:2 c9,t11) pitoisuus lihassa kuin pelkän säilörehun saaneilla eläimillä (0,18 vs. 0,15) toisin kuin Nuernbergin ym. (2005) kokeessa. Nuernberg ym. (2005) vertasivat seosrehuruokinnalla (väkirehu/olki/maissisäilörehu) ja nurmipohjaisella ruokinnalla (laidun/säilörehu/väkirehu) olleita eläimiä. Heidän kokeessa laidun/säilörehuruokittujen eläinten lihassa oli merkittävästi enemmän konjugoitua linolihappoa (C18:2 c9,t11) ja parempi n-6/n-3 -rasvahappojen suhde kuin seosrehuruokituilla eläimillä. Saman tuloksen saivat French ym. (2000) laidunrehun määrän noustessa dieetissä kuudesta kuiva-ainekilosta vuorokaudessa 22 kuiva-ainekiloon eläintä kohden vuorokaudessa. Heidän kokeessa myös öljyhapon (C18:1 n-9) määrä lisääntyi laidunrehun osuuden noustessa väkirehun kustannuksella toisin kuin Smithin ym. (2009) kokeessa. Huuskonen ym. (2010) saivat erittäin merkitsevän eron vakseenihapon (C18:1 n-7) ja hyvin merkitsevän eron konjugoidun linolihapon (CLA eli C18:2 c9,t11) sekä alfalinoleenihapon (C18:3 n-3) määrissä ja merkitsevän eron myristoleiini- (C14:1 n-5), palmitiini- (C16:0) sekä linolihapon (C18:2 n-6) määrissä verratessaan laidun- ja säilörehuruokintaa, vaikka molemmissa ruokintamalleissa oli väkirehutaso sama (4,4 kg kuiva-ainetta ohraa/eläin/vrk).

### 2.2.2 Öljyä sisältävän lisärehun vaikutus

Rypsin lisääminen nautojen ruokintaan vähensi palmitiinihapon (C16:0) ja palmitoleiinihapon (C16:1 n-7) osuutta rasvahapoista, mutta lisäsi steariinihapon (C18:0) ja öljyhapon (C18:1 n-9) osuutta Rulen ym. (1994) kokeessa. Mahecha ym. (2009) ja Herdmann ym. (2010) antoivat rapsinsiemeniä (32 %) sisältävää täysrehua simmental-naudoille 1 kg (rajoitettu ruokinta) tai 2 kg (ei-rajoitettu ruokinta) 112 päivää, 2,5 kg seuraavat 110 päivää ja 3 kg lopun kasvatusajan. Ruokintakoe alkoi eläinten ollessa 3 kk vanhoja. Vertailuryhmä sai soijaa (20 %) sisältävää täysrehua samat määrät. Rapsia saaneiden eläinten lihassa oli öljyhappoa (C18:1 n-9) vähemmän, konjugoidun linolihapon (C18:2 c9,t11) määrä oli suurempi, palmitoleiinihappoa (C16:1 n-7) oli enemmän ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhde oli pienempi kuin vertailuryhmällä.

Dawsonin ym. (2010) kokeessa pellavarouhelisä 0 kg, 0,4 kg, 0,8 kg ja 1,2 kg/eläin/vrk nosti lihan konjugoidun linolihapon (CLA eli C18:2 c9,t11) määrän 18:sta (0 kg pellavarouhetta) 22:een mg/100 g lihaa (1,2 kg pellavarouhetta), laski öljyhapon (C18:1 n-9) määrän 2,20:sta 1,79:ään g/100 g lihaa ja laski n-6/n-3 -rasvahappojen suhteen 5,06:sta 2,72:een. Palmiitiinihapon (C16:0) määrä laski samassa kokeessa 1,63:stä 1,17:een g/100 g lihaa. Noci ym. (2011) ruokkivat lampaita camelina- ja pellavaöljyllä tai natriumhydroksikäsittelyn (pötsimikrobien hajotukselta suojaus) saaneilla camelina- ja pellavansiemenillä. Pienin n-6/n-3 -rasvahappojen suhde oli natriumhydroksidilla (NaOH) käsiteltyjä pellavansiemeniä saaneiden lampaiden lihassa (1,15) ja suurin camelinaöljyä saaneiden lampaiden lihassa (2,14). Öljyhapon (C18:1 n-9) määrään ei eri öljyillä tai käsitellyillä siemenillä ollut merkitystä.

### 2.3 Rodun vaikutus lihan rasvahappokoostumukseen

Jotta yksilöiden välillä olisi tietyssä ominaisuudessa perimän aiheuttamia eroja, täytyy ominaisuuteen vaikuttavassa geenissä tai geeneissä olla periytyvyyttä ja monimuotoisuutta. Nogi ym. (2011) tutkivat japanilaisen black-rodun lihaksensisäisen rasvan koostumuksen periytyvyyttä ja geneettistä korrelaatiota ruhon teurasominaisuuksiin. He saivat myristiinihapolle (C14:0)  $0,70 \pm 0,09$  heritabiliteetin, palmitoleiinihapolle (C16:1)  $0,76 \pm 0,09$  heritabiliteetin, öljyhapolle (C18:1 n-9)  $0,78 \pm 0,09$  heritabiliteetin ja linolihapolle (C18:2 n-6)  $0,58 \pm 0,09$  heritabiliteetin. Toisaalta alfa-linoleenihapolla (C18:3 n-3) ja arakidonihapolla (C20:0) oli heidän mukaansa  $0,00 \pm 0,01$  heritabiliteetti.

Malau-Aduli ym. (2000a) saivat huomattavasti alhaisempia heritabiliteettejä: steariinihapolle (C18:0)  $0,43 \pm 0,18$ , öljyhapolle (C18:1 n-9)  $0,28 \pm 0,15$  sekä kertatydyttymättömille rasvahapoille  $0,40 \pm 0,15$ , monitydyttymättömille rasvahapoille  $0,18 \pm 0,09$  ja tyydyttyneille rasvahapoille  $0,21 \pm 0,17$  heritabiliteetin. Malau-Adulin ym. (2000a) tutkimusaineistossa oli 7 eri rotua risteytetty herefordrodun kanssa. Malau-Aduli ym. (2000b) havaitsivat, että rodulla ei ollut merkitystä palmitiini- (C16:0) ja öljyhapon (C18:1 n-9) määriin, tyydyttyneiden ja kertatydyttymättömien rasvahappojen määriin eikä elongaatioindeksiin, joka kertoo kuinka paljon rasvahappojen kuudentoista hiiliatomin ketjuista pidentyy kahdeksantoista hiiliatomin ketjuiksi. Toisaalta rodulla oli merkittävä vaikutus lihan marmoroitumiseen, lihan rasvan sulamispisteeseen ja steariinihapon (C18:0) määrään.

Bressan ym. (2011) tutkivat *Bos taurus* ja *Bos indicus* -lajien välistä vaikutusta sekä kahden eri loppuruokintamallin vaikutusta lihan rasvahappokoostumukseen. Ruokintamalli vaikutti eniten rasvahappokoostumukseen, mutta lajin vaikutus näkyi kyvyssä muuttaa tyydyttyneet rasvahapot öljyhapoksi sekä pidentää palmitiinihappo (C16:0) steariinihapoksi (C18:0). Malau-Aduli ym. (1998) huomasivat rotujen (limousin ja jersey) välillä merkittävän eron palmitiinihapon (C16:0), gammalinoleenihapon (C18:3 n-6), arakidonihapon (C20:4 n-6), eikosapentaeenihapon (C20:5 n-3) ja lignoseerihapon (C24:0) määrässä. Erot johtuvat heidän mukaansa  $\Delta^9$ -desaturaasi – ja elongaasientsyymien aktiivisuudesta. Aikaisin ja myöhään kypsyvien rotujen eroja selvitti Laborde ym. (2001). He vertasivat simmental- (myöhään kypsyvä) ja punaista angusrotua (aikaisin kypsyvä). N-6/n-3 -rasvahappojen suhde oli simmentalrodulla korkeampi kuin punaisella angusrodulla.  $\Delta^9$ -desaturaasi -entsyymin aktiivisuus oli isompi simmentalrodulla kuin punaisella angusrodulla.

Lihaksensisäisen rasvan synteesiä säätelee SCD-geenin (stearoyl-CoA desaturase -geeni) koodaama  $\Delta^9$ -desaturaasientsyymi. Tämä entsyymi tekee steariinihaposta (C18:0) öljyhappoa (C18:1 n-9) ja *trans*vakseenihaposta (C18:1 trans-11) konjugoitua linolihappoa (CLA eli C18:2 cis-9, trans-11) naudan rasvasoluissa (Smith ym. 2006). Smithin ym. (2006) yhteenvedossa todetaan korealaisella hanwoo- ja japanilaisella blackroduilla olevan huomattavasti suuremman  $\Delta^9$ -desaturaasientsyymien aktiivisuuden kuin angusrodulla.

Märehtijän rasvametaboliaan vaikuttavia geenejä ovat mm. *LPL* (lipoprotein lipase -geeni), *ACACA* (acetyl-coenzyme A carboxylase -geeni), *FASN* (fatty acid synthase -geeni), *FABP4* (fatty acid binding protein -geeni), *DGAT1* (diacylglycerol O-acyltransferase 1 -geeni), *SCD* (stearoyl-CoA desaturase -geeni), *CPT1B* (carnitine palmitoyltransferase 1B -geeni), *LEP* (leptin -geeni), *SREBP1* (sterol regulatory element binding transcription factor 1), *PPARG* (peroxisome proliferator-activated receptor gamma -geeni), *PPARA* (peroxisome proliferator-activated receptor alpha -geeni) ja *CEBPB* [CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta -geeni]. Ruokinnan vaikutusta näiden geenien ilmentymiseen on tutkinut Dervishi ym. (2011) lampailla. Laidunrehua saaneella ryhmällä lihaksen sisäisen rasvan määrään vaikutti eniten selkärasvan paksuus ja teuraspaino, intensiivisen ruokinnan ryhmällä puolestaan taas SREBP1-geenin ekspressio ja teurastusikä. Dervishi ym. (2010) totesivat lampailla tehdyssä

kokeessa, että ruokinta oli tärkein tekijä, mikä vaikutti SCD-geenin ekspressioon. Tämä puolestaan vaikutti konjugoidun linolihapon (CLA eli C18:2 c9,t11) pitoisuuteen ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen.

Lihan beetakaroteenipitoisuus vaikutti Siebertin ym. (2003) tutkimuksessa lihan rasvahappokoostumukseen ja -pitoisuuteen. He totesivat jerseyrodulla olevan suuremman  $\Delta^9$ -desaturaasiaktiivisuuden ja tästä johtuen enemmän kertyydyttymättömiä rasvahappoja ja vähemmän tyydyttyneitä rasvahappoja kuin limousinrodulla. Tutkimuksessa huomattiin myös lihan beetakaroteenipitoisuuden ja lihaksen sisäisen rasvan määrän olevan jerseyrodulla suuremman kuin limousinrodulla. Tämän he arvelivat johtuvan pienentyneestä kyvystä tehdä beetakaroteenista A-vitamiinin eri muotoja, mikä heidän mukaan johtaa pienentyneeseen  $\Delta^9$ -desaturaasiaktiivisuuteen.

#### 2.4 Säilörehun rasvahappokoostumus

Säilörehu on heinä- ja palkokasveista tehtyä, maitohappokäymisen avulla säilöttyä märehtijöiden rehua. Säilönnässä käytetään bakteeriviljelmiä tai säilöntähappoja, joista yleisin on muurahaishappo (Jaakkola ym. 2006; Martineau ym. 2006; Martineau ym. 2007; Shingfield ym. 2002). Raaka-aineena säilörehussa on Suomessa yleensä heinäkasjeista timotei (*Phleum pratense*) ja nurminata (*Festuca pratensis*) sekä palkokasveista puna-apila (*Trifolium pratense*) tai valkoapila (*Trifolium repens*).

Keskimäärin lipidejä on heinäkasjeissa 3 – 10 % kuiva-aineesta. Heinäkasjeissa lipidejä on solujen membraaneissa. Suurin osa heinäkasjeiden lipideistä on kloroplasteissa eli viherhiukkasissa, joissa niitä voi olla 30 % kuiva-aineesta. Viherhiukkasten kalvoissa on eniten galaktolipidejä ja kasvien muissa solukalvoissa fosfolipidejä. (Hatfield ym. 2007; Elgersma ym. 2006.)

Galakto- ja fosfolipidien rasvahapot ovat pitkäketjuisia (> 12 hiiltä ketjussa) ja suurimmaksi osaksi tyydyttymättömiä rasvahappoja. Suurin osa heinäkasjeiden rasvahapoista on alfa-linoleenihappoa (C18:3 n-3), seuraavaksi eniten on linolihappoa (C18:2 n-6) tai palmitiinihappoa (C16:0). Vanhatalon ym. (2007) tutkimuksessa alfa-linoleenihappoa (C18:3 n-3) oli 16,57 mg/g kuiva-ainetta (ka) varhaisella kasvuasteella (niittoajankohta 17.6.) olevassa hei-

näkasvissa, linolihappoa (C18:2 n-6) 6,03 mg/g ka ja palmitiinihappoa (C16:0) 5,00 mg/g ka. Yhdeksän päivää myöhemmin (26.6.) rasvahappojen määrät olivat alfa-linoleenihappoa (C18:3 n-3) 10,61 mg/g ka, linolihappoa (C18:2 n-6) 8,13 mg/g ka ja palmitiinihappoa (C16:0) 4,09 mg/g ka.

Lipidien määrään ja rasvahappojen pitoisuuksiin heinä- ja palkokasveissa vaikuttaa kasvilaji, -lajike, kasvun vaihe ja ulkoiset olosuhteet, esimerkiksi typpilannoituksen määrä. Säilörehun rasvahappokoostumukseen puolestaan vaikuttaa esikuivatuksen kesto ja säilöntäaineen käyttö (Van Ranst 2009a).

#### 2.4.1 Kasvilaji ja lajikkeet

Eri kasvilajeista on tutkittu heinäkasveista mm. timotein (*Phleum pratense*), nurminadan (*Festuca pratensis*) ja raiheinän yksivuotisten lajikkeiden (*Lolium multiflorum*) sekä monivuotisen lajikkeen (*Lolium perenne*) rasvahappokoostumusta. Palkokasveista on tutkittu puna-apilan (*Trifolium pratense*) ja valkoapilan (*Trifolium repens*) rasvahappokoostumusta sekä ulkomaisissa tutkimuksissa myös sinimailasen (*Medicago sativa*) rasvahappokoostumusta.

Boufaïedin ym. (2003a) tutkimuksessa saatiin merkittävä ero kasvilajien (12 eri lajia) välille kaikkien rasvahappojen määrissä, mutta vain timotein lajikkeiden välillä ero oli merkitsevä. Suurin alfa-linoleenihappopitoisuus (C18:3 n-3) oli yksivuotisessa italianraiheinässä (*Lolium multiflorum*, 20,6 mg/g ka) ja pienin eräässä timotein lajikkeessa (Champ-lajike, 7,3 mg/g ka). Palkokasveista valkoapilassa oli suurin alfa-linoleenihappopitoisuus (C18:3 n-3, 16,5 mg/g ka) ja sinimailasessa pienin (6,0 mg/g ka).

Erittäin merkittävän eron kasvilajien välille saivat myös Dewhurst ym. (2001) myöhäisessä niittoajankohdassa (marraskuu). Vertailussa oli timotein, nurminadan, raiheinän ja koiranheinän (*Dactylis glomerata*) lajikkeita. Elgersma ym. (2003) totesivat englanninraiheinän (*Lolium perenne*) lajikkeiden välillä rasvahappokoostumuksessa merkittäviä eroja. Lehtien määrä kasvissa vaikuttaa rasvahappojen määrään ja koostumukseen, mutta se ei selittänyt Elgersman ym. (2003) mukaan tässä kokeessa havaittua lajikkeiden välistä eroa.

Palmitiini- (C16:0), palmitoleiini- (C16:1 n-7), steariini- (C18:0), öljy- (C18:1 n-9) ja linolihapon (C18:2 n-6) määriin oli kasvilajilla erittäin merkittävä vaikutus Van Ranstin ym. (2009b) ko- keessa ja alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) määrään merkittävä vaikutus. Van Ranst ym. (2009b) vertailivat englanninraiheinää, puna-apilaa ja valkoapilaa sekä näiden lajikkeita to- siinsa. Lajikkeiden välille he eivät saaneet merkittäviä eroja rasvahappokoostumuksessa toi- sin kuin Palladino ym. (2009). Palladinon ym. (2009) mukaan lajikkeiden väliset erot johtuvat lehtimassan määrästä eri aikaan tapahtuvan kukinnan vuoksi eri lajikkeilla, mutta myös valon määrällä ja lämpötilalla on merkitystä. Cabiddun ym. (2009) mukaan lajien väliset erot ovat merkittävämpiä kuin lajikkeiden.

#### 2.4.2 Niittoajankohta ja lannoitus

Koivusen (2010) tutkimuksessa timotei-nurminatanurmen kasvuasteen vanheneminen 5.6. ajankohdasta 13.6. ja 25.6. ajankohtiin vähensi rasvahappojen kokonaismäärän 16,0:sta, 13,7:ään ja 10,3:een g/kg ka. Puna-apilalla samassa tutkimuksessa ja samoilla ajankohdilla oli rasvahappojen kokonaismäärä 17,2, 16,5 ja 12,7 g/kg ka. Elgersman ym. (2005) mukaan niit- tojen välinen aika vaikuttaa rasvahappojen pitoisuuteen ja erityisesti alentaa alfa-linoleeni- (C18:3 n-3) ja palmitiinihappojen (C16:0) pitoisuutta mitä pidemmäksi niittoväli muodostuu.

Niittoajankohdan vaikutus rasvahappojen määriin ja keskinäisiin suhteisiin perustuu lehtien ja korsien suhteelliseen osuuteen kasvimassasta kasvuston kypsyessä kasvullisesta vaiheesta kukinnan kautta siementen tuottovaiheeseen. Koska suurin osa heinäkasvien rasvahapoista on lehtien viherhiukkasten tylakoideissa, vaikuttaa viherhiukkasten määrä kasvien rasvahap- popitoisuuteen. Lehtien suhteellinen osuus pienenee kasvuston vanhetessa kohti kukintaa ja tämän vuoksi rasvahappojen määrä pienenee kasvuston vanhetessa. (Boufaïed ym. 2003a.)

Typpilannoituksen kasvattaminen lisäsi rasvahappojen määrää Elgersman ym. (2005) tutki- muksessa, mutta se ei vaikuttanut rasvahappojen keskinäisiin suhteisiin päinvastoin kuin Boufaïedin ym. (2003a) tutkimuksessa. Boufaïed ym. (2003a) saivat suurimman lisäyksen alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) määrään (40 % lisäys) ja pienimmän linolihapon (C18:2 n-6) määrään (12 % lisäys) typpilannoituksen kasvaessa 0-tasosta 120 kg N/ha (typeä/hehtaari). Heidän tutkimuksessaan fosforilannoituksella ei ollut vaikutusta rasvahappojen määrään.



### 2.4.3 Esikuivatus ja säilöntä

Säilörehun valmistuksessa veden haihduttamisella niitetystä kasvustosta eli esikuivatuksella on merkitystä säilönnällisen laadun kannalta (McEniry ym. 2007). Pellolla tapahtuvan esikuivatuksen tulisi kuitenkin olla lyhytaikainen ruohon rasvojen hapettumisen kannalta. Hapen läsnä ollessa rasvahapot hapettuvat aina aldehydeiksi ja ketoneiksi asti (Dewhurst ym. 2006) ja näin menetetään ruohon tyydyttymättömiä, pitkäketjuisia rasvahappoja. Boufaïd ym. (2003a) saivat merkittävän eron rasvahappojen kokonaismäärään sekä alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) määrään esikuivatettaessa ruohomassa 23 %:n kuiva-ainepitoisuudesta 40 % kuiva-ainepitoisuuteen. Sekä rasvahappojen kokonaismäärä että alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) määrä laskee esikuivatuksen aikana.

Arvidssonin ym. (2009) tutkimuksessa vuorokautta lyhyempi esikuivatusaika ei vaikuttanut rasvahappojen määriin tai keskinäisiin suhteisiin merkittävästi. He tavoittelivat esikuivatuksella 33 – 35 % kuiva-ainepitoisuutta. Van Ranst ym. (2009b) toteavat rasvahappojen hävikin esikuivatuksen aikana johtuvan nimenomaan tyydyttymättömien rasvahappojen hapettumisesta. Tyydyttymättömät rasvahapot ovat alttiimpia hapettumiselle kuin tyydyttyneet ja tämän vuoksi esikuivatus vähentää kokonaisrasvahappojen määrää saman verran kuin alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) määrä vähenee. Yleensä palmitiinihappomäärä (C16:0) ei pienene esikuivatuksessa (Van Ranst ym. 2009b).

Van Ranst ym. (2009b) havaitsivat, että kasveissa on ainesosia, jotka vaikuttavat rasvahappojen hapettumiseen esikuivatuksen aikana. Nämä tekijät ovat lipoksygenaasia aktivoivia ja/tai hapettumisen estäviä aineita. Näillä aineilla on yhteys kasvien stressin sietoon ja esimerkiksi kylmänkestävyyteen siten, että mitä parempi kylmänkestävyys on, sitä alhaisempi on lipoksygenaasiaktiivisuus (Kaniuga 2008).

### 3 NAUDANLIHAN E-VITAMIINIPITOISUUTEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

#### 3.1 Naudan E-vitamiinimetabolia

E-vitamiini on yleisnimitys ryhmälle rasvaliukoisia yhdisteitä, joilla on alfatokoferolin biologinen aktiivisuus. Luonnossa esiintyy kahdeksan erilaista E-vitamiinyhdistettä: alfa-, beeta-, gamma- ja deltatokoferolit sekä alfa-, beeta-, gamma- ja deltatokotrienolit. Näistä biologisesti aktiivisin on alfatokoferoli. 1 mg luontaista alfatokoferolia vastaa 1,49 k.y. (kansainvälistä yksikköä). 1 k.y. puolestaan vastaa 1 mg synteettistä all-*rac*- $\alpha$ -tokoferyyliasetaatin aktiivisuutta (Mutanen & Voutilainen 2007.)

E-vitamiinin tehtävä elimistössä on toimia antioksidanttina neutraloimalla vapaita radikaaleja ja pienentämällä lipidien peroksidaatiota. E-vitamiini suojaa solukalvojen monityydyttymättömiä rasvahappoja hapettumiselta ja näin se ylläpitää kaikkien solukalvojen rakennetta kaikkialla elimistössä (Mutanen & Voutilainen 2007).

Märehtijän on saatava rehusta E-vitamiinia, koska märehtijän elimistö ei kykene syntetisoimaan sitä itse. Rehuista E-vitamiini imeytyy alfatokoferolina ohutsuoilesta ja sieltä se kulkeutuu kaikkiin kudoksiin. Kasvaville naudoille on E-vitamiinin ruokintasuositus 25 k.y. (16,78 mg alfatokoferolia)/kg rehun kuiva-ainetta (MTT 2011).

#### 3.2 Naudan ruokinnan E-vitamiinin lähteet

Säilörehussa on alfatokoferolia, jos säilöntä on onnistunut hyvin. MTT:n rehutaulukon mukaan säilörehun E-vitamiinipitoisuus vaihtelee 300:sta mg/kg ka 180:een mg/kg ka (MTT 2011). Vastan ym. (2011) tutkimuksessa oli säilörehussa korkeampi pitoisuus alfatokoferolia (63,4 mg/kg ka) kuin laidunruohossa (22,6 mg/kg ka). Heidän kokeessa säilörehun raaka-aineena oli englannin raiheinä (*Lolium perenne*) ja laidunnurmiseoksessa oli valkoapilaa (*Trifolium repens*), nurmikkaa (*Poa ssp.*) ja englannin raiheinää (*Lolium perenne*).

Jukolan ym. (1996) tutkimuksessa säilörehun alfatokoferolipitoisuus oli 76,5 mg/kg ka, heinä 25,9 mg/kg ka, kuivatun ohran 10,8 mg/kg ka ja kuivatun kauran 10,4 mg/kg ka. Tuoresäilötyn ohran alfatokoferolipitoisuus jäi Jukolan ym. (1996) tutkimuksessa 1,5 mg/kg ka. Müllerin ym. (2007) mukaan lyhyt esikuivatus pellolla säilyttää parhaiten raaka-aineen alfatokoferolipitoisuuden säilörehussa. Säilörehun korjuukerta vaikuttaa rehun alfatokoferolipitoisuuteen; ensimmäisessä korjuussa on eniten ja kolmannessa vähiten alfatokoferolia (Lynch ym. 2001).

### 3.3 Naudanlihan E-vitamiinipitoisuus

Naudanlihan alfatokoferolipitoisuus vaihteli 1,14:sta  $\mu\text{g/g}$  lihaa 2,63:een  $\mu\text{g/g}$  lihaa Röhrlein ym. (2011) tutkimuksessa. Matalin pitoisuus oli ohraan perustuvalla väkirehuvaltaisella ruokinnalla ja korkein pelkkää laidunta saaneella eläinryhmällä. Fredriksson Eriksson & Pickova (2007) saivat laidunrehulla ruokituilla eläimillä pienemmän alfatokoferolipitoisuuden kuin pelkällä säilörehuruokinnalla olleilla eläimillä ( $1,03 \pm 0,25 \mu\text{g/g}$  vs.  $1,20 \pm 0,20 \mu\text{g/g}$ ). Laidunruokittujen ja vilja/säilörehu -ruokittujen eläinten lihassa pitoisuudet olivat lähes samat ( $1,03 \pm 0,25 \mu\text{g/g}$  vs.  $1,06 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$ ). He havaitsivat myös lihan säilytyksen vakuumpakattuna, pimeässä ja  $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ :ssa 14 vuorokautta vähentävän alfatokoferolipitoisuutta heti teurastuksen jälkeen otettuihin lihanäytteisiin verrattuna (säilörehuruokinta:  $1,20 \pm 0,20 \mu\text{g/g}$  vs.  $0,91 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$  ja säilörehu+vilja -ruokinta:  $1,06 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$  vs.  $0,92 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$ ).

## 4 AINEISTO JA MENETELMÄT

### 4.1 Lihanäytteet

Lihanäytteet tulivat Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskuksen Ruukin toimipaikassa kasvaneista liharotuisista sonneista. Sonnit olivat ruokintakokeista, joissa tutkittiin väkirehuannostuksen ja rypsi Valkuaislisan vaikutusta liharotuisten eläinten kasvuun, teurastuloksiin ja lihan laatuun. Eläimet olivat hereford- ja charolaisrotuisia. Aineistossa on kahden eri ruokintakokeen eläimiä. Ensimmäiseen ruokintakokeeseen eläimet tulivat syksyllä 2008 ja toiseen syksyllä 2009 noin puolivuotiaina. Ensimmäisen ruokintakokeen eläinten lihanäytteiden analysointi tehtiin projektityössä keväällä 2010 (Kämäräinen 2011). Nämä tulokset on yhdistetty toisen ruokintakokeen lihanäytteiden tuloksiin. Eläimiä ruokintakokeeseen tuli kuudelta eri tilalta: kolmelta tilalta herefordeläimiä ja kolmelta tilalta charolaiseläimiä. Herefordryhmässä oli kuuden eri astutussonnin jälkeläisiä ja charolaisryhmässä kahdeksan eri astutussonnin jälkeläisiä. Ruokintakoe kesti noin vuoden teuraspainotavoitteen ollessa 380 kg molemmilla roduilla kummassakin kokeessa. Kokeen kesto, alku-, loppu- ja teuraspainot ja -tiedot sekä päiväkasvut ja teurasprosentti ruokintakoeryhmittäin selviävät taulukosta 1.

**Taulukko 1. MTT:n Ruukin toimipisteen pihvirotuisten nautojen ruokintakoe-eläinten kasvu- ja teurastiedot ruokintakoeryhmittäin (Teuras- ja tutkimustiedot, Arto Huuskonen, MTT).**

Rotu Väkirehutaso	herefordrotu				charolaisrotu			
	20		50		20		50	
	EI	ON	EI	ON	EI	ON	EI	ON
Rypsiitiivistelisiä koe-eläimet, kpl	7	8	6	6	6	6	4	5
Kokeen kesto (vrk)	412	402	336	383	354	353	345	331
Alkupaino (kg) <sup>a</sup>	253	254	250	248	292	295	303	298
Loppupaino (kg) <sup>b</sup>	730	717	698	752	734	730	784	796
Teuraspaino (kg) <sup>c</sup>	388	384	372	410	409	413	449	447
Päiväkasvu (g/vrk) <sup>d</sup>	1156	1152	1339	1323	1251	1241	1407	1525
Nettokasvu (g/vrk) <sup>e</sup>	635	639	739	750	747	757	871	916
Teurasprosentti (g/kg) <sup>f</sup>	532	535	533	545	557	565	572	561
Lihakkuus, EUROP <sup>g</sup>	6,4	5,6	6,2	6,5	7,5	7,4	9,8	9,2
Rasvaisuus, EUROP <sup>h</sup>	4,6	4,6	4,3	4,9	2,6	2,6	3	3

a) ruokintakokeen alussa punnittu noin puolivuotiaan vasikan paino

b) ruokintakokeen lopussa punnittu elopaino

c) teurasruhon paino, joka saadaan kun teurastetusta eläimestä on poistettu kaikki muu, paitsi luut ja lihat

d) päiväkasvu = (loppupaino – alkupaino)/kokeen kesto, vrk

e) nettokasvu = [teuraspaino-(alkupaino x 0,4)]/kokeen kesto, vrk

f) teurasprosentti g/kg = teuraspaino/loppupaino

g) lihakkuus, EUROP-luokitus 1=P-, 2=p, 3=P+, 4=O-, 5=O, 6=O+, 7=R-, 8=R, 9=R+, 10=U-, 11=U, 12=U+, 13=E-, 14=E, 15=E+, jossa 1 on heikoin ja 15 on paras

h) rasvaisuus, EUROP-luokitus 1= rasvaton ruho, 2, 3, 4, ja 5 = erittäin rasvainen ruho

Ruokintakoejärjestelyt on esitetty taulukossa 2. Väkirehuna ruokintakokeessa oli kuivattu ohra, joka annettiin eläimille valssimyllyllä litistettynä. Rypsi Valkuaislisänä oli A-rehun RypsiTiiviste, jossa on energiaa 11,7 MJ/kg ka ja valkuaisista ohutsuolesta imeytyvänä valkuaisena 160 g OIV/kg ka. Raakarasvaa A-rehun RypsiTiivisteessä on 47,71 g/kg ka. Eläimet ovat saaneet ruokintakokeitten ajan A-, D- ja E-vitamiinilisää ja kivennäisilisää. Vitamiinivalmisteena on ollut Suomen rehun XylitolIADESAN, jota on annettu 15 ml/eläin/viikko. XylitolIADESAN sisältää 30 mg/ml E-vitamiinia. Kivennäisvalmisteena on ollut A-Rehun KasvuApeKivennäinen, jossa on seleeniä 9 mg/kg ja E-vitamiinia 450 mg/kg. Kivennäistä eläimet ovat saaneet 150 g/eläin/päivä. E-vitamiinia eläimet saivat kivennäisestä ja vitamiinivalmisteesta yhteensä 131,5 mg/pv.

Ohrassa oli energiaa keskimäärin 12,98 MJ/kg ka ensimmäisen kokeen aikana ja 13,11 MJ/kg ka toisen kokeen aikana. Ohran raakavalkuaistaso ensimmäisessä kokeessa oli 125 g/kg ka ja toisessa 115 g/kg ka. Säilörehujen energiataso ensimmäisessä kokeessa oli 10,97 MJ/kg ka ja toisessa kokeessa 10,20 MJ/kg ka. Raakavalkuaista ensimmäisen kokeen säilörehuissa oli keskimäärin 167 g/kg ka ja toisen kokeen säilörehuissa 120 g/kg ka (taulukko 11).

**Taulukko 2. MTT:n Ruukin toimipisteen liharotuisten nautojen kahden ruokintakokeen (vuosina 2008, 2009, 2010, 2011) järjestelyt. Koe-eläimet olivat hereford- ja charolaisrotuisia lihanautoja kahdella eri väkirehutasolla (20 %, 50 %) ja rypsiitiivistelillä tai ilman rypsiitiivistelisiä.**

Ruokintaryhmät (koe-eläimiä <sup>a</sup> ):	I (7 kpl)	II (8 kpl)	III (6 kpl)	IV (6 kpl)	V (6 kpl)	VI (6 kpl)	VII (4 kpl)	VIII (5 kpl)
<b>Rotu <sup>b</sup></b>	Hf	Hf	Hf	Hf	Ch	Ch	Ch	Ch
<b>Väkirehutaso, % päivittäisestä kuiva-aineen syönnistä</b>	20	20	50	50	20	20	50	50
<b>Rypsiivalkuaislisä kg/vrk <sup>c</sup></b>	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0	0,5

a) suluissa koe-eläinten määrät yhteensä kahdesta eri ruokintakokeesta

b) Hf = hereford-, Ch = charolaisrotu

c) rypsiivalkuaislisä (A-rehun Rypsiitiiviste) sisältyy väkirehuannoksen 20 % tai 50 % kuiva-aineeseen

Eläimet teurastettiin Atrian Kuopion toimipisteessä ensimmäinen erä syksyn 2009 ja talven 2010 aikana ja toinen erä syksyn 2010 ja talven 2011 aikana. Ruhoista otettiin 0,5 kg painoinen näyte ulkofileestä (*Longissimus dorsi*) ruhon leikkuun yhteydessä. Näytteet pakattiin välittömästi ilmatiiviisti ja pakastettiin -20 °C:een.

#### 4.2 Säilörehunäytteet

Ruokintakokeissa käytetty säilörehu on ollut kolmena eri vuonna tehtyä säilörehua. Säilörehu on tuotettu MTT:n Ruukin toimipaikassa ja se on säilötty laakasiiloissa. Kesällä 2008 tehtyä säilörehua on syötetty koe-eläimille syksyllä 2008 ja vuoden 2009 alussa. Kesällä 2009 tehtyä rehua on syötetty syksyllä 2009 ja vuoden 2010 alussa. Kesällä 2010 tehtyä rehua on syötetty vuoden 2010 syksyllä ja tammikuussa 2011. Ensimmäisen ruokintakokeen eläimet saivat vuosien 2008 ja 2009 rehua ja toisen ruokintakokeen eläimet vuosien 2009 ja 2010 rehua. Säilörehunurmissa on ollut vielä kesällä 2008 ruokonataa, mutta vuodesta 2009 alkaen säilörehunurmissa on ollut vain timoteita. Timotei on ollut Iki-lajiketta. Säilörehunurmet saivat ensimmäiselle sadolle 100 kg tyypeä/hehtaari (lannoitus Pellon Y4, 20-2-12) ja toiselle sadolle 80 kg tyypeä/hehtaari turvemailla ja 100 kg tyypeä/hehtaari kivennäismailla (lannoitus NK2, 20-0-15).

Ruokintakokeiden aikana kerättiin säilörehua koostumusanalyysiä varten. Rinnakkaisnäyte rasvahappoanalyysiä varten otettiin samoista eristä yhtä aikaa koostumusnäytteen kanssa. Koostumusnäytteet analysoi Valion Seinäjoen Aluelaboratorio. Koostumusnäytteistä määri-

tettiin kuiva-ainepitoisuus, sulavuus, raakavalkuaispitoisuus ja säilönnällinen laatu. Rehuarvot laskettiin em. analyysien perusteella. Rasvahappoanalyysiä varten säilörehunäytteet pakattiin muovipusseihin ja säilytettiin analyysiin asti -20 °C:ssa.

### 4.3 Lihan rasvahappoanalyysi

Lihanäytteiden rasvahappoanalyysiä varten rasvan hydrolyysi ja uutto tehtiin AOAC 996.06 standardimenetelmästä muokatulla menetelmällä ja rasvahappojen metylointi menetelmällä C.N.T.A/1974. Rasvahappojen tunnistus tehtiin kaasukromatografilla. Rasvahapot tunnistettiin rasvahappostandardilla GLC 461 (GLC reference standard, Nu-Chec-Prep, inc. USA) ja yksittäisiä rasvahappoja standardeilla U-48M (vakseenihappo C18:1 n-7), UC-60M (konjugoitu linolihappo CLA eli C18:2 c9,t11), U-69M (dihomogammalinoleenihappo C20:3 n-6), U-99M (eikosapentaeenihappo C20:5 n-3), U-101M (dokosapentaeenihappo C22:5 n-3) sekä U-84M (dokosaheksaeenihappo C22:6 n-3). Kaikkien standardien valmistaja oli NU-Check Prep, Inc. Rasvahappojen määrä laskettiin käyttäen ulkoisena standardina steariinihappoa (C18:0 >99,5 %, Sigma-Aldrich, Fluka analytical).

#### 4.3.1 Esikäsittely ja happohydrolyysi

Lihanäytteen annettiin sulaa jääkaappilämpötilassa 12 tuntia ennen jauhamista. Lihanäytteestä poistettiin pinnasta näkyvä rasva ja näyte jauhettiin Kenwood -lihamyllyllä (Kenwood meat grinder MG700, PRO 2000 Excel, 2000W MaxPower, 3 kg/min) käyttäen puolikarkeaa reikälevyä. Jauhetusta lihanäytteestä punnittiin 3 rinnakkaista näytettä mojonnier-putkiin. Putkiin lisättiin 2 ml etanolia (Aa-laatu, 99 %) ja 10 ml 8 M suolahappo (HCl)-liuosta. Näyteputket laitettiin vesihauteeseen (+80 °C) 40 minuutiksi. Putket jäähdytettiin huoneenlämpöiseksi ja niihin lisättiin 10 ml etanolia (Aa-laatu, 99 %).

#### 4.3.2 Eetteriuutto

Uutto suoritettiin kahdella eri eetterillä kahteen kertaan. Hydrolysoituihin näytteisiin lisättiin 25 ml dietyylieetteriä (analyysilaatu, Merck), ravisteltiin 5 min, lisättiin 25 ml petrolieetteriä (analyysilaatu, Merck), ravisteltiin 5 min ja seisotettiin 30 min. Mojonnier-putken yläosaan erottunut kirkas eetterikerros dekantoitiin kolviin. Käsittely toistettiin ja erottunut eetterikerros dekantoitiin kolviin. Eetterit haihdutettiin kolvista pyöröhaihduttimella (Rotavapor R-210, Büchi Switzerland).

#### 4.3.3 Metylointi

Rasvahappojen metylointi kaasukromatografia varten tehtiin menetelmällä C.N.T.A/1974 (mukailtu, liuottimena heksaani petrolieetterin sijaan). Rasvahapot siirrettiin kolvista heksaanilla (n-Hexane, analyysilaatu, Merck) 25 ml:n mittapulloon. Tästä laimennoksesta otettiin koeputkeen 1 ml heksaaniliuosta, joka metyloitiin lisäämällä 0,2 ml 2 M NaOH (natriumhydroksidi)-metanolia ja 0,4 ml 1 M HCl (suolahappo)-metanolia. Metyloituneet rasvahapot uutettiin heksaaniin (2 ml, n-Hexane, analyysilaatu Merck). Koeputken yläosaan ravistelun jälkeen eronnut heksaanikerros pipetoitiin toiseen koeputkeen, jossa se kuivattiin natriumsulfaatilla ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) ja tyellä ( $\text{N}_2$ ). Rasvahapot liuotettiin 1 ml:lla heksaania (LiChrosolv, Merck) ja suodatettiin ruiskusuodattimen ( $\varnothing$  0,45  $\mu\text{m}$ ) läpi näytepulloon.

#### 4.3.4 Rasvahappojen analysointi kaasukromatografilla

Rasvahappokoostumus ja -pitoisuus mitattiin liekki-ionisaatiodektoirilla (FID) varustetulla kaasukromatografilla (Agilent 6850 Series, GC System). Injektion tilavuus oli 1  $\mu\text{l}$  (ruiskutusuhde 30:1). Kaasukromatografian injektorin lämpötila oli 250 °C ja liekki-ionisaatiodektoirin lämpötila 280 °C. Rasvahappojen erottelemiseen toisistaan käytettiin HP-FFAP -kolonnia (Agilent Eclipse XDB-C8, 25 m x 0,200 mm x 0,33  $\mu\text{m}$ ). Kolonniuunin ohjelma oli seuraava: alkulämpötila 35 °C, nosto 195 °C:een (+25 °C/min), nosto 205 °C:een (+3 °C/min), nosto 220 °C:een (+8 °C/min), 220 °C pidetään 22 min. Näyteajon kokonaisaika oli 34,61 min. Helium oli kantajakaasuna vakiovirtauksella 1,0 ml/min.



Rasvahappojen tunnistus tehtiin käyttäen rasvahappojen standardiseosta (GLC referenssi-standardi 461, LOT:J5-T, valmistaja NU-Check Prep, Inc. USA) ja yksittäisiä rasvahappostandardeja (konjugoitu linolihappo CLA-c9,t11, vakseenihappo C18:1-c11, homogamma-linoleenihappo C20:3 n-6, eikosapentaenihappo C20:5 n-3, dokosapentaenihappo C22:5 n-3 sekä dokosaheksaenihappo C22:6 n-3) standardeilla UC-60M, U-48M, U-69M, U-99M, U-101M ja U-84M (valmistaja NU-Check Prep, Inc. USA). Rasvahappojen määrän mittaukseen käytettiin steariinihappoa (C18:0, Sigma-Aldrich, Fluka analytical, Methyl stearate 85769-1G  $\geq 99,5$  %). Steariinihaposta tehtiin standardisuora kuuden pisteen avulla. Taulukossa 3 on tunnistettujen rasvahappojen nimet ja lyhenteet.

Menetelmää testattiin tekemällä samasta lihanäytteestä 9 rinnakkaista rasvahappomääritystä, rasvahappojen metyloinnin onnistumista testattiin tekemällä samasta punnitusnäytteestä 5 rinnakkaista ja kaasukromatografian luotettavuutta testattiin tekemällä samasta koepullostakuusi mittauksista. Liitteessä 1 ja 2 on esitetty rasvahappoanalyysin menetelmän testien tulokset.

**Taulukko 3. Lihanäytteistä tunnistettujen rasvahappojen lyhenteet ja nimet (triviaalinimi, jos rasvahapolla sellainen on tai systemaattinen nimi). Nimen perässä on muutamilla rasvahapoilla kirjainyhdistelmä, jota yleisesti käytetään rasvahapon nimenä, esim. ALA = alfa-linoleenirasvahappo.**

lyhenne	nimi: triviaali tai systemaattinen	lyhenne	nimi: triviaali tai systemaattinen
<b>C8:0</b>	kapryylihappo	<b>C18:3 n-6</b>	gammalinoleenihappo GLA <sup>a</sup>
<b>C10:0</b>	kapriinihappo	<b>C18:3 n-3</b>	alfalinoleenihappo ALA <sup>b</sup>
<b>C12:0</b>	lauriinihappo	<b>C18:2 c9,t11</b>	cis-9, trans-11-CLA, konjugoitunut linolihappo
<b>C14:0</b>	myristiinihappo	<b>C20:0</b>	arakidiinihappo
<b>C14:1 n-5</b>	myristoleiinihappo	<b>C20:1 n-9</b>	eikoseenihappo
<b>C15:0</b>	pentadekaaniinihappo	<b>C20:2 n-6</b>	eikosadieenihappo
<b>C16:0</b>	palmitiinihappo	<b>C20:3 n-9</b>	eikosatrieenihappo
<b>C16:1 n-7</b>	palmitoleiinihappo	<b>C20:3 n-6</b>	dihomogamma linoleenihappo DGLA <sup>a</sup>
<b>C17:0</b>	heptadekaanihappo	<b>C20:4 n-6</b>	arakidonihappo AA <sup>a</sup>
<b>C17:1</b>	10-heptadekeenihappo	<b>C20:5 n-3</b>	eikosapentaenihappo EPA <sup>a</sup>
<b>C18:0</b>	steariinihappo	<b>C22:0</b>	behenihappo
<b>C18:1 n-9</b>	öljyhappo	<b>C22:1</b>	erukahappo
<b>C18:1 n-7</b>	vakseenihappo	<b>C22:2</b>	dokosadieenihappo
<b>C18:2 n-6</b>	linolihappo LA <sup>a</sup>		

a) n-6 sarjan rasvahapot: linoli-(LA), gammalinoleeni- (GLA), dihomogammalinoleeni- (DGLA) ja arakidonihappo (AA)

b) n-3 sarjan rasvahapot: alfa-linoleeni-(ALA) ja eikosapentaenihappo (EPA)

#### 4.4 Lihan alfatokoferolianalyysi

Lihasta tehtiin alfatokoferolianalyysi samoista jauhetuista lihanäytteistä, joista tehtiin rasvahappoanalyysi. Analyysi tehtiin Katsanidis & Addisin (1999) kehittämän ja Hewavitharana ym. (2004) muokkaaman menetelmän perusteella. Menetelmästä poistettiin sisäisenä standardina käytetyn alfatokoferoliasetaatin ja antioksidanttina toimivan butyylihydroksitolueenin (BHT) lisäykset. Menetelmään lisättiin kuivaus natriumsulfaatilla ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) ja haihdutus typpikaasulla ( $\text{N}_2$ ).

Jauhettua lihanäytettä punnittiin noin 1 g (kolme rinnakkaista näytettä) koeputkeen. Näytteisiin lisättiin 4 ml etanolia (Aa-laatu, > 99 %) ja homogenisoitiin Ultra-Turrax -laitteella (Heidolph T25 basic, Kika Labortechnik) 30 s. Seuraavaksi lisättiin 5 ml tislattua vettä (Elga) ja homogenisoitiin 15 s, minkä jälkeen lisättiin 4 ml heksaania (n-Hexane, analyysilaatu, Merck) ja homogenisoitiin 15 s. Koeputket pidettiin valolta ja hapelta suojattuina korkitettuina ja käärittynä tinapaperiin käsittelyn aikana. Putket sentrifugoitiin (Function Line Labofuge 400, Heraeus Instruments) 10 min 1500 rpm. Putken yläosaan erottunut kerros pipetoitiin koeputkeen, jossa se kuivattiin natriumsulfaatilla ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) ja siirrettiin uuteen koeputkeen, jossa kuivaus tehtiin typpikaasulla ( $\text{N}_2$ ). Koeputkesta näyte siirrettiin 1 ml:lla asetonia (analyysilaatu, Merck) ruiskusuodattimen ( $\varnothing$  0,45  $\mu\text{m}$ ) läpi näytepulloon.

Alfatokoferolin määrittäminen lihanäytteestä tehtiin fluoresenssidetektorilla varustetulla korkean erotuskyvyn nestekromatografilla eli HPLC:llä (High performance liquid chromatography, Agilent 1100 Series). Ajoliuoksena eli liikkuvana faasina oli metanoli (MeOH, LiChrosolv Methanol Merck): vesi [ $\text{H}_2\text{O}$ , suodatettu (Whatman  $\varnothing$  0,45  $\mu\text{m}$ ) Elga-vesi] -seos suhteella 95:5. Ajoliuoksen virtausnopeus oli 1 ml/min. Stationäärifaasina eli kiinteänä faasina oli kolonnissa (Eclipse XDB-C8 Analytical 4,6x150 mm 5-micro Agilent 993967-906) silika. Esikolonnina oli XDB-C8 (Analytical Guard Column 4,6 x 12,5 mm 5 micro Agilent 820950-926). Kolonniuunin lämpötila oli 30 °C, näytteen injektointitilavuus 20  $\mu\text{l}$  ja ajoaika 30 min. Detektorina oli fluoresenssidetektor (Agilent 1100 Fluorescence Detector), jossa eksitaatio oli 292 nm ja emissio 324 nm. Standardisuora tehtiin alfatokoferolista (97 %, Aldrich, Sigma-Aldrich, Switzerland), joka liuotettiin asetoniin.

Katsanidis & Addisin (1999) kehittämän ja Hewavitharana ym. (2004) muokkaaman menetelmän viimeistä vaihetta ennen näytepulloon laittamista muokattiin haihduttamalla näytteessä oleva heksaani tyypellä (N<sub>2</sub>) ja testaamalla haihdutetun näytteen uudelleenliuotusta sekä siirtoa näytepulloon etanolilla ja asetonilla. Ennen haihduttamista poistettiin vesi natriumsulfaatilla (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Hewavitharanan ym. (2004) menetelmässä on käytetty sisäisenä standardina alfatokoferoliasetaattia (300 µl 200 mg/l DL- $\alpha$ -Tocopherol acetate,  $\geq$  98 % Sigma Aldrich) ja butyylihydroksitolueenia (4 ml 200 mg/l BHT 2,6-Di-tert-butyl-p-cresol,  $\geq$  99 % Sigma Aldrich) antioksidanttina. Näiden molempien tarpeellisuutta testattiin tulosten vaihteluvuuden kannalta (taulukko 8).

Alfatokoferolin määritysmenetelmänä testattiin Jaakkolan kehittämää menetelmää, jossa jauhettua näytettä punnittiin noin 5 g koeputkeen, johon lisättiin 15 ml asetonia (analyysilaatu, Merck). Koeputki laitettiin 10 minuutiksi jäihin ultraäänihauteeseen (Finn Sonic m03). Tämän jälkeen näytteet sentrifugoitiin +17 °C:ssa 10 min kierrosnopeudella 3500 rpm. Koeputken yläosaan erottuneesta nesteestä suodatettiin ( $\varnothing$  0,45 µm) 1 ml näytettä näytepulloon, josta analysoitiin alfatokoferolin määrä HPLC:lla (Jaakkola, julkaisematon). Rinnakkaisiin näytteisiin tuli tällä menetelmällä suurempi vaihtelu (taulukko 8) kuin muokatussa Hewavitharanan ym. (2004) menetelmässä, jota päädyttiin käyttämään lihan alfatokoferolien mittaamiseen.

#### 4.5 Säilörehun rasvahappoanalyysi

Säilörehun rasvahappoanalyysi tehtiin samalla tavalla kuin lihanäytteiden rasvahappoanalyysi. Ensin tehtiin rasvan hydrolyysi ja uutto AOAC 996.06 standardimenetelmästä muokatulla menetelmällä ja rasvahappojen metylointi menetelmällä C.N.T.A/1974. Rasvahappojen tunnistus tehtiin kaasukromatografilla. Rasvahapot tunnistettiin rasvahappostandardilla GLC 461 ja yksittäisiä rasvahappoja standardeilla UC-60M, U-48M, U-69M, U-99M, U-101M ja U-84M (valmistaja NU-Check Prep, Inc. USA). Rasvahappojen määrä laskettiin käyttäen ulkoisena standardina steariinihappoa (C18:0 >99,5 %, Sigma-Aldrich, Fluka analytical).

Säilörehunäyte jauhettiin tehosekoittimella (Braun 350 Watt). Jauhetusta näytteestä punnittiin 2 g mojonnier-putkeen (kolme rinnakkaista). Rasvojen hydrolyysi säilörehunäytteistä tehtiin samalla tavalla kuin lihanäytteille etanolilla ja suolahapolla. Eetteriuutto ja metylointi samoin kuin analysointi kaasukromatografilla tehtiin samalla tavalla kuin lihanäytteille.

#### 4.6 Tilastollinen analyysi

Aineiston tilastollinen käsittely tehtiin lihan rasvahappopitoisuudelle ja -määrälle sekä alfatokoferolin määrälle. Lihan rasvahappojen pitoisuusaineistossa ja rasvahappojen määrääineistossa on yhdistettynä ensimmäisen ja toisen ruokintakokeen tulokset. Alfatokoferolipitoisuudelle ja -määrälle tehtiin analysointi ja tilastollinen käsittely vain toisen ruokintakokeen eläinten lihasta. Säilörehun rasvahappopitoisuudelle ei tehty tilastollista käsittelyä näytteiden vähäisen määrän vuoksi.

Tilastollisen testauksen koemalli oli  $2 \times 2 \times 2$  faktoriaalinen koe, jossa havaintoyksikkönä oli eläin. Tulosten tilastollisena käsittelynä tehtiin varianssianalyysi SAS-ohjelmiston GLM-proseduurilla (SAS 1999).

Testauksessa käytetty koemalli oli:

$$y_{ijkl} = \mu + \delta l + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha \times \beta)_{ij} + (\alpha \times \gamma)_{ik} + (\beta \times \gamma)_{jk} + (\alpha \times \beta \times \gamma)_{ijk} + (\delta \times \alpha)_{li} + (\delta \times \beta)_{lj} + (\delta \times \gamma)_{lk} + e_{ijkl},$$

missä  $\mu$  on yleiskeskisarvo ja  $e_{ijkl}$  on virhetermi.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ja  $\delta$  ovat rodun, väkirehutason, rypsilisän ja kokeen vaikutukset. Havaittuja eroja pidettiin erittäin merkitsevänä kun  $p < 0,001$ , hyvin merkitsevänä kun  $0,001 \leq p < 0,01$  ja merkitsevänä kun  $0,01 \leq p < 0,05$ .

## 5 TULOKSET

### 5.1 Lihan rasvahappokoostumus

Lihanäytteiden yksittäisten rasvahappojen osuus prosentteina analysoiduista rasvahapoista on esitetty taulukoissa 4 ja 5, jossa on esitetty merkitsevyydet. Taulukossa 4 tulokset on esitetty ruokintakoeryhmittäin, joita oli 8 kpl. Ryhmät muodostuivat rodusta (hereford- ja charolaisrotu), väkirehutasosta (20 % tai 50 % väkirehua dieetin kuiva-aineesta) ja rypsiivisteellisestä (0,5 kg rypsiivistettä tai 0 kg rypsiivistettä). Taulukossa 5 tulokset on esitetty ruokintakoetekijöittäin, joita oli kolme (rotu, väkirehutaso, rypsilisä). Taulukoihin 4 ja 5 on laskettu tyydyttyneiden (ei kaksoissidoksia hiiliketjun hiilien väleissä), kertatyydyttymättömien (yksi kaksoissidos hiiliketjussa) ja monityydyttymättömien (kaksi tai useampi kaksoissidos hiiliketjussa) rasvahappojen osuus analysoiduista rasvahapoista sekä n-6/n-3 -rasvahappojen suhde. N-6 rasvahappoihin on laskettu linoli- (C18:2 n-6), gammalinoleeni- (C18:3 n-6), dihomogammalinoli- (C20:3 n-6) ja arakidonihappo (C20:4 n-6). N-3 rasvahappoihin on laskettu alfa-linoleeni- (C18:3 n-3) ja eikosapentaeenihappo (C20:5 n-3).

Rodulla oli vaikutusta useiden rasvahappojen osuuksiin analysoiduista rasvahapoista (taulukko 5). Kertatyydyttymättömistä rasvahapoista öljy- (C18:1 n-9), vakseeni- (C18:1 n-7) ja palmitoleiinihappoon (C16:1 n-7), monityydyttymättömistä linoli- (C18:2 n-6), alfa-linoleeni- (C18:3 n-3) ja gammalinoleeni- (C18:3 n-6) rotu vaikutti erittäin merkitsevästi ( $p < 0,001$ ). Myös monityydyttymättömien rasvahappojen osuuteen analysoiduista rasvahapoista vaikutti rotu erittäin merkitsevästi ( $p < 0,001$ ). Öljyhapon (C18:1 n-9) osuus oli isompi hereford- kuin charolaisrotuisilla (38,57 % vs. 35,85 %). Vakseeni- (C18:1 n-7), linoli- (C18:2 n-6), alfa-linoleeni- (C18:3 n-3) ja gammalinoleeni- (C18:3 n-6) osuus oli puolestaan charolaisrotuisilla isompi kuin herefordrotuisilla. Kertatyydyttymättömien rasvahappojen osuuteen kaikista rasvahapoista ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen rotu vaikutti hyvin merkitsevästi ( $p < 0,01$ ). N-6/n-3 -rasvahappojen suhde oli herefordrotuisilla 3,72 ja charolaisrotuisilla 4,48.

Väkirehutasen vaikutus näkyi erittäin suurella merkitsevyydellä n-6/n-3 -rasvahappojen suhteessa, alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) osuudessa analysoiduista rasvahapoista ja kahden tyydyttyneen rasvahapon (pentadekanoiinihappo, C15:0 ja heptadekaanihappo, C17:0) osuuksissa analysoiduista rasvahapoista ( $p < 0,001$ ). Väkirehua 20 % saaneiden eläinten lihasen sisäisessä rasvassa oli n-6/n-3 -rasvahappojen suhde 3,16 ja vastaavasti 50 % väkirehua saaneilla eläimillä 5,03 (taulukko 5). Öljyhapon (C18:1 n-9) osuuteen väkirehutaso vaikutti merkitsevästi ( $p < 0,05$ ). 50 % väkirehutasolla olleilla eläimillä öljyhappoa (C18:1 n-9) oli 38,08 % ja 20 % väkirehutasolla vastaavasti 36,35 %. Rypsi-alku- ja -lisa vaikutti palmitiinihapon (C16:0) osuuteen erittäin merkitsevästi ( $p < 0,001$ ). Rypsi-alku- ja -lisa vaikutti palmitiinihappoa (C16:0) 28,53 % ja ilman rypsilisää olleilla 30,03 %.

Taulukon 4 mukaan suurin öljyhappopitoisuus (C18:1 n-9, 40,13 %) oli herefordrotuisilla eläimillä, jotka saivat 50 % väkirehua ja rypsi-alku- ja -lisa. Pienin öljyhappopitoisuus (C18:1 n-9, 34,04 %) oli charolaisrotuisilla eläimillä, jotka saivat 20 % väkirehua ja rypsi-alku- ja -lisa. Pienin n-6/n-3 -rasvahappojen suhde (2,77) oli herefordrotuisilla eläimillä, jotka saivat 20 % väkirehua ja rypsi-alku- ja -lisa. Suurin n-6/n-3 -rasvahappojen suhde (5,73) oli charolaisrotuisilla eläimillä, jotka saivat 50 % väkirehua ja olivat ilman rypsi-alku- ja -lisa.

Lihanäytteiden rasvahappojen määrät mg/100 g lihaa on esitetty taulukoissa 6 ja 7, jossa on esitetty merkitsevyydet. Taulukossa 6 tulokset on ruokintakoeryhmittäin ja taulukossa 7 ruokintakoetekijöittäin. Ruokinnalla oli merkitsevä vaikutus ( $0,01 \leq p < 0,05$ ) rasvahappojen kokonaismäärään, monityydyttymättömien ja tyydyttyneiden rasvahappojen määrään, myristiini- (C14:0), palmitiini- (C16:0), palmitoleiini- (C16:1 n-7), steariini- (C18:0), vakseeni- (C18:1 n-7) sekä arakidiinihapon (C20:0) määriin. Ruokinta vaikutti hyvin merkitsevästi ( $0,001 \leq p < 0,01$ ) kertatyydyttymättömien rasvahappojen määrään ja öljy- (C18:1 n-9) sekä eikoseeni- (C20:1 n-9) määriin. Ruokinnalla oli erittäin merkitsevä ( $p < 0,001$ ) vaikutus linolihapon (C18:2 n-6) määrään ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen. Rotu vaikutti hyvin merkitsevästi ( $0,001 \leq p < 0,01$ ) n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen ja merkitsevästi ( $0,01 \leq p < 0,05$ ) gammalinoleenihapon (C18:3 n-6) määrään (taulukko 7).

**Taulukko 4. Naudanlihanäytteiden (0,5 kg ulkofileestä, *Longissimus dorsi*) yksittäisten rasvahappojen osuudet prosentteina analysoiduista rasvahapoista roduittain (hereford ja charolais) ruokintakoeryhmittäin (8 kpl). Lihanäytteet ovat MTT:n liharotuisten nautojen ruokintakokeista Ruukin toimipisteestä. Ruokintakokeet tehtiin vuosien 2008, 2009, 2010 ja 2011 aikana.**

Rotu Väkirehutaso <sup>a</sup> Rypsiivitelisä <sup>b</sup> koe-eläimet, kpl	herefordrotu				charolaisrotu			
	20		50		20		50	
	EI	ON	EI	ON	EI	ON	EI	ON
	7	8	6	6	6	6	4	5
rasvahappo:	% analysoiduista rasvahapoista:							
C8:0	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00
C10:0	0,03	0,02	0,03	0,04	0,03	0,01	0,02	0,02
C12:0	0,06	0,03	0,06	0,05	0,06	0,06	0,07	0,05
C14:0	3,05	2,66	2,96	2,75	3,27	2,85	2,87	2,90
C14:1	0,59	0,43	0,46	0,56	0,56	0,49	0,59	0,49
C15:0	0,42	0,39	0,36	0,35	0,54	0,53	0,34	0,37
C16:0	29,94	28,09	29,02	28,19	31,03	28,99	30,16	28,80
C16:1 n-7	3,71	3,13	3,53	3,45	3,98	3,87	4,12	3,73
C17:0	0,98	1,04	0,93	0,92	1,05	1,06	0,84	0,90
C17:1	0,83	0,78	0,73	0,59	0,76	0,67	0,71	0,74
C18:0	17,35	19,42	18,53	17,49	17,30	18,45	16,23	18,02
C18:1n-9	37,62	38,84	37,77	40,13	34,77	34,04	36,87	37,55
C18:1n-7	2,03	1,90	1,96	1,95	2,34	2,84	2,16	2,01
C18:2 n-6,LA	1,33	1,29	1,64	1,59	1,53	2,16	2,24	2,02
C18:3 n-6,GLA	0,44	0,41	0,55	0,46	0,65	1,12	0,94	0,67
C18:3n-3,ALA	0,66	0,64	0,52	0,44	0,80	0,95	0,59	0,56
C18:2 c9,t11, CLA	0,27	0,21	0,18	0,20	0,27	0,31	0,23	0,23
C20:0	0,07	0,12	0,10	0,15	0,10	0,14	0,06	0,13
C20:1 n-9	0,08	0,20	0,14	0,15	0,09	0,04	0,10	0,19
C20:2 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
C20:3 n-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,02	0,00	0,00
C20:3 n-6, DGLA	0,04	0,00	0,09	0,13	0,38	0,19	0,25	0,18
C20:4 n-6, AA	0,02	0,00	0,07	0,03	0,00	0,06	0,04	0,05
C20:5 n-3, EPA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,46	0,00	0,02
C22:0	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:2	0,50	0,42	0,32	0,43	0,31	0,69	0,57	0,37
Tyydyttyneet <sup>c</sup>	51,94	51,76	52,05	50,02	53,40	55,34	50,59	51,15
Kertatyydyttymättömät <sup>d</sup>	44,82	45,27	44,60	46,75	42,49	39,09	44,55	44,75
Monityydyttymättömät <sup>e</sup>	3,24	2,97	3,34	3,24	4,11	5,58	4,87	4,10
n-6/n-3 - rasvahappojen suhde <sup>f</sup>	2,86	2,77	4,63	4,74	3,26	4,05	5,73	5,18

a) väkirehutaso on ohran ja rypsiivitelisän osuus koko dietin kuiva-aineesta/vrk/eläin

b) rypsiivitelisä on A-rehun rypsiiviste, jota annettiin 0,5 kg/eläin/vrk ruokintakoejärjestelyn mukaisille eläimille

c) tyydyttyneet rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa ei ole yhtään kaksoissidosta

d) kertatyydyttymättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa on yksi kaksoissidos

e) monityydyttymättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa on kaksi tai useampi kaksoissidos

f) n-6 ryhmässä on linolihappo LA (C18:2 n-6), gammalinoleenihappo GLA (C18:3 n-6), dihomogammalinoleenihappo DGLA (C20:3 n-6) ja arakidonihappo AA (C20:4 n-6) ja n-3 ryhmässä on alfa-linoleenihappo ALA (C18:3 n-3) ja eikosapentaeenihappo EPA (C20:5 n-3)

**Taulukko 5. Naudanlihanäytteiden (0,5 kg ulkofileesta, *Longissimus dorsi*) yksittäisten rasvahappojen osuudet prosentteina analysoiduista rasvahapoista ruokintakoet-  
kijöittäin, joita ovat rotu (hereford tai charolais), väkirehutaso (20 tai 50 % väkirehua dieetin kuiva-aineesta) ja rypsiitivielisä (0,5 kg rypsiitivielistä tai ei lainkaan ryp-  
sitiivistettä). Hf = herefordrotu ja ch = charolaisrotu. Lihanäytteet ovat MTT:n liharotuisten nautojen ruokintakokeista Ruukin toimipisteestä. Ruokintakokeet tehtiin  
vuosien 2008, 2009, 2010 ja 2011 aikana.**

koe-eläimet, kpl rasvahappo:	Rotu		Väkirehutaso <sup>a</sup>		Rypsiitivielisä <sup>b</sup>		SEM <sup>g</sup>	Rotu	Ruokinta	Tilastollinen merkitsevyys (P-arvo)					
	hf 27	ch 21	20 27	50 21	Ei 25	ON 23				Lisä	Ro×Ru	Ro×Li	Ru×Li	Ro×Ru×Li	
	% analysoiduista rasvahapoista														
C8:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,004	0,285	0,451	0,059	0,849	0,247	0,396	0,869	
C10:0	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02	0,009	0,014	0,086	0,037	0,219	0,112	0,001	0,960	
C12:0	0,05	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,018	0,375	0,554	0,230	0,434	0,789	0,908	0,501	
C14:0	2,86	2,96	2,96	2,87	3,03	2,80	0,189	0,143	0,473	0,019	0,458	0,582	0,245	0,499	
C14:1	0,51	0,53	0,51	0,53	0,55	0,49	0,070	0,456	0,849	0,152	0,886	0,821	0,155	0,096	
C15:0	0,38	0,44	0,47	0,35	0,41	0,41	0,047	0,003	0,0004	0,758	0,027	0,487	0,661	0,784	
C16:0	28,84	29,72	29,49	29,07	30,03	28,53	0,697	0,016	0,240	0,0006	0,899	0,761	0,351	0,900	
C16:1	3,48	3,94	3,69	3,73	3,84	3,58	0,208	<0,0001	0,885	0,016	0,755	0,288	0,803	0,136	
C17:0	0,96	0,96	1,03	0,89	0,95	0,98	0,059	0,885	0,0005	0,409	0,189	0,953	0,809	0,381	
C17:1	0,74	0,73	0,77	0,70	0,76	0,70	0,081	0,548	0,138	0,160	0,103	0,715	0,960	0,280	
C18:0	18,13	17,43	18,07	17,48	17,34	18,22	0,903	0,138	0,333	0,065	0,764	0,568	0,199	0,090	
C18:1 n-9	38,57	35,85	36,35	38,08	36,78	37,64	1,129	<0,0001	0,020	0,158	0,131	0,167	0,342	0,932	
C18:1 n-7	1,96	2,34	2,28	2,02	2,12	2,18	0,164	<0,0001	0,014	0,491	0,014	0,046	0,120	0,101	
C18:2 n-6,LA	1,45	1,98	1,57	1,86	1,68	1,75	0,158	<0,0001	0,006	0,358	0,893	0,071	0,039	0,046	
C18:3 n-6,GLA	0,47	0,85	0,66	0,66	0,64	0,67	0,111	<0,0001	0,898	0,475	0,212	0,055	0,004	0,028	
C18:3n-3,ALA	0,57	0,73	0,77	0,54	0,64	0,66	0,075	0,0004	<0,0001	0,933	0,106	0,233	0,314	0,371	
C18:2 c9,t11, CLA	0,21	0,26	0,27	0,21	0,24	0,24	0,057	0,173	0,118	0,956	0,904	0,517	0,651	0,420	
C20:0	0,11	0,11	0,11	0,11	0,08	0,14	0,046	0,734	0,657	0,114	0,309	0,786	0,567	0,915	
C20:1 n-9	0,14	0,10	0,10	0,14	0,10	0,14	0,045	0,046	0,111	0,133	0,172	0,198	0,773	0,031	
C20:2 n-6	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,015	0,263	0,392	0,302	0,352	0,261	0,394	0,331	
C20:3 n-9	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,018	0,134	0,250	0,744	0,196	0,760	0,817	0,792	
C20:3 n-6, DGLA	0,07	0,24	0,15	0,16	0,19	0,12	0,106	0,006	0,750	0,274	0,235	0,255	0,398	0,946	
C20:4 n-6, AA	0,03	0,03	0,02	0,05	0,03	0,03	0,041	0,811	0,175	0,978	0,587	0,250	0,545	0,680	
C20:5 n-3, EPA	0,01	0,17	0,16	0,02	0,02	0,15	0,186	0,180	0,319	0,406	0,187	0,384	0,530	0,385	
C22:0	0,01	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,028	0,382	0,269	0,302	0,352	0,382	0,268	0,331	
C22:2	0,42	0,50	0,49	0,43	0,43	0,49	0,128	0,463	0,660	0,754	0,876	0,816	0,980	0,003	
Tyydyttyneet <sup>c</sup>	51,37	52,42	52,94	50,85	51,96	51,84	1,772	0,165	0,060	0,987	0,206	0,245	0,410	0,896	
Kertatyydyt- tymättömät <sup>d</sup>	45,40	42,86	43,04	45,23	44,15	44,11	1,692	0,008	0,051	0,963	0,111	0,145	0,229	0,621	
Monityydyt- tymättömät <sup>e</sup>	3,23	4,71	4,02	3,92	3,89	4,05	0,507	<0,0001	0,924	0,819	0,293	0,340	0,215	0,035	



n-6/n-3 - rasvahappojen suhde <sup>f</sup>	3,72	4,48	3,16	5,03	4,11	4,09	0,557	0,004	<0,0001	0,610	0,910	0,441	0,253	0,312
--	------	------	------	------	------	------	-------	-------	---------	-------	-------	-------	-------	-------

a) väkirehutaso on ohran ja rypsiivisteiden osuus koko dieetin kuiva-aineesta/vrk/eläin

b) rypsilisä on A-rehun rypsiiviste, jota annettiin 0,5 kg/eläin/vrk ruokintakoejärjestelyn mukaisille eläimille

c) tyydyttyneet rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa ei ole yhtään kaksoissidos

d) kertatyydyttymättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa on yksi kaksoissidos

e) monityydyttymättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa on kaksi tai useampi kaksoissidos

f) n-6 ryhmässä on linolihappo LA (C18:2 n-6), gammalinoleenihappo GLA (C18:3 n-6), dihomogammalinoleenihappo DGLA (C20:3 n-6) ja arakidonihappo AA (C20:4 n-6) ja n-3 ryhmässä on alfalinaloleenihappo ALA (C18:3 n-3) ja eikosapentaeenihappo EPA (C20:5 n-3)

g) keskiarvon keskivirhe (standard error of mean)

**Taulukko 6. Naudanlihanäytteiden (0,5 kg ulkofileestä, *Longissimus dorsi*) yksittäisten rasvahappojen määrät (mg/100 g lihaa) ruokintakoeryhmittäin, joita on 8 kpl. Lihanäytteet ovat MTT:n liharotuisten nautojen ruokintakokeista Ruukin toimipisteestä. Ruokintakokeet tehtiin vuosien 2008, 2009, 2010 ja 2011 aikana.**

Rotu Väkirehutaso <sup>a</sup> Rypsiivistelisiä <sup>b</sup> koe-eläimet, kpl rasvahappo:	hereford-rotu				charolais-rotu			
	20		50		20		50	
	EI 7	ON 8	EI 6	ON 6	EI 6	ON 6	EI 4	ON 5
	mg/100 g lihaa							
C12:0	2,21	1,97	2,52	2,08	2,25	2,11	2,56	3,69
C14:0	108,20	80,64	114,34	94,42	95,28	48,17	122,71	151,32
C14:1	20,79	12,83	19,95	19,00	16,08	8,68	24,58	25,50
C15:0	15,45	11,54	13,57	10,29	14,69	8,17	13,41	19,68
C16:0	1080	852	1142	989	867	492	1224	1528
C16:1	127,83	90,93	135,09	113,20	110,56	62,60	165,26	181,33
C17:0	36,13	32,01	36,21	31,92	28,01	17,24	32,92	46,69
C17:1	30,03	23,49	28,67	21,90	22,40	12,21	27,23	36,31
C18:0	638	596	715	641	463	307	663	947
C18:1 n-9	1341	1176	1490	1462	954	595	1465	1961
C18:1 n-7	66,40	54,44	68,51	61,60	59,82	41,44	78,52	89,01
C18:2 n-6,LA	48,07	37,75	62,46	53,81	40,97	33,11	76,14	97,09
C18:3 n-6,GLA	13,58	10,88	17,11	11,91	15,18	14,29	28,74	25,61
C18:3n-3,ALA	26,79	19,15	19,54	15,18	24,04	14,62	21,92	29,42
C18:2 c9,t11, CLA	9,79	7,90	7,30	6,53	6,92	5,88	8,24	11,54
C20:0	4,43	4,46	5,88	5,25	3,51	5,26	8,02	8,95
C20:1	4,94	6,80	7,96	7,03	3,90	4,07	12,09	13,15
C22:2	52,26	32,09	61,98	44,94	31,32	20,40	58,68	59,80
yhteensä mg <sup>c</sup>	3604	3033	3919	3577	2759	1691	4007	5213
Tyydyttyneet <sup>d</sup>	1885	1578	2036	1776	1475	877	2065	2706
Kertatyydyttymättömät <sup>e</sup>	1590	1364	1748	1684	1166	722	1767	2304
Monityydyttymättömät <sup>f</sup>	129	91	135	117	118	92	175	203
n-6/n-3 - rasvahappojen suhde <sup>g</sup>	2,86	2,77	4,63	4,73	3,26	3,68	5,73	5,19

a) väkirehutaso on ohran ja rypsiivistelisen osuus koko dieetin kuiva-aineesta/vrk/eläin

b) rypsiivistelisiä on A-rehun rypsiiviste, jota annettiin 0,5 kg/eläin/vrk ruokintakoejärjestelyn mukaisille eläimille

c) rasvahappojen yhteismäärä mg/100 g lihaa

d) tyydyttyneet rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa ei ole yhtään kaksoissidos

e) kertatyydyttymättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa on yksi kaksoissidos

f) monityydyttymättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa on kaksi tai useampi kaksoissidos

g) n-6 ryhmässä on linolihappo LA (C18:2 n-6), gammalinoleenihappo GLA (C18:3 n-6), dihomogammalinoleenihappo DGLA (C20:3 n-6) ja arakidonihappo AA (C20:4 n-6) ja n-3 ryhmässä on alfa-linoleenihappo ALA (C18:3 n-3) ja eikosapentaenihappo EPA (C20:5 n-3)

**Taulukko 7. Naudanlihanäytteiden (0,5 kg ulkofileestä, *Longissimus dorsi*) yksittäisten rasvahappojen määrät (mg/100 g lihaa) ruokintakoetekijöittäin, joita ovat rotu (hf=hereford tai ch=charolais), väkirehutaso (20 tai 50 % väkirehua dieetin kuiva-aineesta) ja rypsiivistelisä (0,5 kg rypsiivistettä tai ei lainkaan rypsiivistettä). Lihanäytteet ovat MTT:n liharotuisten nautojen ruokintakokeista Ruukin toimipisteestä. Ruokintakokeet tehtiin vuosien 2008, 2009, 2010 ja 2011 aikana.**

koe-eläimet, kpl	Rotu		Väkirehutaso <sup>a</sup>		Rypsiivistelisä <sup>b</sup>		SEM <sup>h</sup>	Rotu	Ruokinta	Tilastollinen merkitsevyys (P-arvo)				
	hf	ch	20	50	EI	ON				Lisä	Ro×Ru	Ro×Li	Ru×Li	Ro×Ru×Li
C12:0	2,19	2,65	2,14	2,70	2,41	2,43	0,788	0,572	0,182	0,895	0,573	0,555	0,166	0,651
C14:0	99,15	103,39	81,81	120,73	110,31	92,23	30,272	0,649	0,035	0,213	0,122	0,899	0,163	0,450
C14:1	18,05	18,37	14,23	22,19	20,35	16,07	6,622	0,645	0,053	0,223	0,213	0,853	0,211	0,945
C15:0	12,70	13,87	12,33	14,24	14,28	12,28	3,755	0,906	0,378	0,216	0,133	0,864	0,098	0,257
C16:0	1010	1019	810	1218	1081	948	287,7	0,451	0,020	0,314	0,079	0,914	0,162	0,495
C16:1	116,78	129,18	96,77	149,20	135,02	110,94	35,029	0,925	0,016	0,169	0,082	0,898	0,220	0,673
C17:0	33,73	30,81	27,91	36,64	33,35	31,19	8,223	0,147	0,070	0,502	0,079	0,933	0,128	0,309
C17:1	25,92	24,30	21,75	28,47	27,10	23,11	6,640	0,209	0,096	0,194	0,047	0,908	0,142	0,325
C18:0	640	588	493	736	622	607	159,0	0,131	0,010	0,723	0,053	0,977	0,158	0,306
C18:1 n-9	1354	1233	1001	1585	1317	1269	346,7	0,138	0,005	0,669	0,075	0,850	0,123	0,507
C18:1 n-7	62,51	66,69	54,90	74,30	68,39	60,81	13,675	0,836	0,023	0,265	0,082	0,877	0,193	0,585
C18:2 n-6,LA	50,06	61,71	39,56	72,21	57,25	54,52	15,018	0,636	0,0004	0,595	0,046	0,690	0,232	0,558
C18:3 n-6,GLA	13,43	20,98	13,46	20,95	18,69	15,71	3,885	0,009	0,005	0,206	0,035	0,784	0,708	0,961
C18:3n-3,ALA	20,27	22,40	21,03	21,64	23,06	19,61	6,016	0,850	0,838	0,168	0,103	0,949	0,090	0,488
C18:2 c9,t11, CLA	7,84	8,17	7,64	8,37	8,07	7,94	2,369	0,743	0,735	0,870	0,114	0,511	0,418	0,708
C20:0	5,86	6,47	5,19	7,14	6,21	6,12	1,587	0,446	0,021	0,641	0,031	0,186	0,714	0,962
C20:1	7,89	8,64	6,19	10,33	8,08	8,45	3,426	0,105	0,002	0,924	0,008	0,754	0,388	0,153
C22:2	47,82	42,55	34,02	56,35	51,06	39,31	16,201	0,754	0,095	0,163	0,287	0,505	0,749	0,832
yhteensä mg <sup>c</sup>	3505	3388	2731	4162	3583	3309	926,0	0,277	0,010	0,473	0,073	0,907	0,145	0,472
tyydyttyneet <sup>d</sup>	1887	1603	1451	2162	1881	1653	487,2	0,317	0,016	0,412	0,072	0,938	0,158	0,414
Kertatydyttymättömät <sup>e</sup>	1647	1337	1213	1895	1578	1450	406,9	0,189	0,006	0,576	0,074	0,856	0,131	0,520
Monitydyttymättömät <sup>f</sup>	123	133	105	157	138	117	37,1	0,669	0,021	0,327	0,127	0,924	0,203	0,890
n-6/n-3 - rasvahappojen suhde <sup>g</sup>	3,56	4,41	3,13	4,96	3,89	3,97	0,511	0,005	<0,0001	0,816	0,827	0,647	0,341	0,442

a) väkirehutaso on ohran ja rypsiivisteen osuus koko dieetin kuiva-aineesta/vrk/eläin

b) rypsilisä on A-rehun rypsiiviste, jota annettiin 0,5 kg/eläin/vrk ruokintakoejärjestelyn mukaisille eläimille

c) rasvahappojen yhteismäärä mg/100 g lihaa

d) tyydyttyneet rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa ei ole yhtään kaksoissidosta

e) kertatydyttymättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa on yksi kaksoissidos

f) monitydyttymättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joissa on kaksi tai useampi kaksoissidos

g) n-6 ryhmässä on linolihappo LA (C18:2 n-6), gammalinoleenihappo GLA (C18:3 n-6), dihomogammalinoleenihappo DGLA (C20:3 n-6) ja arakidonihappo AA (C20:4 n-6) ja n-3 ryhmässä on alfa-linoleenihappo ALA (C18:3 n-3) ja eikosapentaeenihappo EPA (C20:5 n-3)

h) keskiarvon keskivirhe (standard error of mean)

## 5.2 Lihan E-vitamiinipitoisuus

Taulukossa 8 on tulokset kahdella eri lihanäytteellä (29 ja 30) tehdystä analyysimenetelmien vertailusta. Siinä on lihan alfatokoferolipitoisuus ( $\mu\text{g/g}$  lihaa) kolmesta rinnakkaisesta näytteestä jokaisesta eri menettelystä ja näille rinnakkaisille laskettu keskihajonta. Pienin hajonta oli rinnakkaisnäytteissä numero 29\_4 (14.12.), 29\_5 (14.12.) ja 29\_6 (14.12.). Suurin hajonta oli rinnakkaisnäytteissä numero 30\_1 (10.12.), 30\_2 (10.12.) ja 30\_3 (10.12.).

Taulukoissa 9 ja 10 on esitetty lihan alfatokoferolipitoisuus ruokintakoeryhmittäin ja -tekijöittäin. Korkein alfatokoferolipitoisuus on herefordrotuisilla, 50 % väkirehua saaneilla, ilman rypsiivistelisiä olleilla eläimillä (2,90  $\mu\text{g/g}$  lihaa) ja matalin charolaisrotuisilla, 20 % väkirehua ja rypsiivistelisiä saaneilla eläimillä (2,10  $\mu\text{g/g}$  lihaa). Ruokintakoetekijöittäin tarkasteltuna alfatokoferolipitoisuus on herefordrotuisilla (2,58  $\mu\text{g/g}$  lihaa) korkeampi kuin charolaisrotuisilla (2,25  $\mu\text{g/g}$  lihaa), 50 % väkirehua dieetin kuiva-aineesta laskettuna saaneilla (2,52  $\mu\text{g/g}$  lihaa) kuin 20 % väkirehua saaneilla (2,31  $\mu\text{g/g}$  lihaa) ja ilman rypsiivistelisiä jääneillä (2,47  $\mu\text{g/g}$  lihaa) kuin rypsiivistelisiä saaneilla eläimillä (2,36  $\mu\text{g/g}$  lihaa). Rodulla, väkirehutasolla tai rypsiivistelisällä ei tässä aineistossa havaittu tilastollista merkitsevyyttä lihan alfatokoferolipitoisuuteen.

**Taulukko 8. Erilaisien määrittämenetelmien vertailu kahden lihanäytteen (29, 30) alfatokoferolipitoisuutena (µg/g lihaa). A, B ja C ovat rinnakkaisten näytteiden tunnuksia.**

Näyte numero, rinnakkaiset = A, B, C	Katsanidis <sup>a</sup>	Jaakkola <sup>b</sup>	määrän mittausta <sup>c</sup>	0,3 µl alfatokoferoliasetaattia <sup>d</sup>	4 ml BHT <sup>e</sup>	kuivausnatriumsulfaattilla <sup>f</sup>	kuivaustypellä <sup>g</sup>	etanoli (EtOH) <sup>h</sup>	asetoni <sup>i</sup>	alfatokoferolia µg/g <sup>j</sup>	keskihajonta kolmen rinnakkaisen A, B, C välillä
30_2 (8.12.) A	x						x			2,75	1,40
30_3 (8.12.) B	x						x			2,55	
30_4 (8.12.) C	x						x			0,24	
30_5 (8.12.) A	x		x				x			2,65	0,13
30_6 (8.12.) B	x		x				x			2,41	
30_7 (8.12.) C	x		x				x			2,60	
30_1 (10.12.) A		x								0,85	0,31
30_2 (10.12.) B		x								1,09	
30_3 (10.12.) C		x								1,46	
30_4 (10.12.) A	x					x	x		x	2,47	0,16
30_5 (10.12.) B	x					x	x		x	2,15	
30_6 (10.12.) C	x					x	x		x	2,27	
29_1 (14.12.) A	x					x	x	x		1,28	0,17
29_2 (14.12.) B	x					x	x	x		1,09	
29_3 (14.12.) C	x					x	x	x		0,95	
29_4 (14.12.) A	x					x	x		x	1,70	0,10
29_5 (14.12.) B	x					x	x		x	1,90	
29_6 (14.12.) C	x					x	x		x	1,79	
29_7 (14.12.) A	x			x		x	x		x	1,83	0,19
29_8 (14.12.) B	x			x		x	x		x	2,19	
29_9 (14.12.) C	x			x		x	x		x	1,92	
29_10 (14.12.) A	x			x	x	x	x		x	1,79	0,12
29_11 (14.12.) B	x			x	x	x	x		x	1,89	
29_12 (14.12.) C	x			x	x	x	x		x	2,02	

a) Katsanidis = alfatokoferolianalyysimenetelmä Katsanidis & Addis (1999) mukaan, muokattu Hewavitharana ym. (2004) mukaan

b) Jaakkola Mari (2011)

c) määrän mittausta = fuugauksessa erottunut heksaani, joka mitattiin ja jonka määrää käytettiin tuloksen laskemisessa

d) lisätty sisäisenä standardina alfatokoferoliasetaattia 0,3 µl

e) lisätty BHT-heksaania 4 ml BHT (200mg/l)

f) fuugauksen jälkeen erottunut heksaanikerros, joka pipetoitiin koeputkeen, kuivattiin natriumsulfaattilla (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

g) koeputkesta haihdutettiin heksaani typpikaasulla (N<sub>2</sub>)

h) kuivatusta koeputkesta näyte siirrettiin koepulloon joko etanolilla tai

i) asetonilla

j) lihanäytteen alfatokoferolipitoisuus µg/g lihaa

**Taulukko 9. Naudanlihan alfatokoferolipitoisuus ( $\mu\text{g/g}$  lihaa) ruokintakoeryhmittäin. Lihanäytteet (*Longissimus dorsi*, ulkofile) ovat MTT:n Ruukin toimipisteessä kasvatetuista liharotuisista naudoista. Aineistossa on yhden ruokintakokeen eläimet, joiden ruokintakoe toteutettiin syksystä 2009 tammikuuhun 2011.**

Rotu	herefordrotu				charolaisrotu				SEM <sup>c</sup>	Rotu	Ruokinta	Tilastollinen merkitsevyys (P-arvo)				
	20		50		20		50					Lisä	Ro×Ru	Ro×Li	Ru×Li	Ro×Ru×Li
Väkirehutaso <sup>a</sup>	EI	ON	EI	ON	EI	ON	EI	ON								
Rypsiivistelisiä <sup>b</sup>																
koe-eläimiä, kpl	2	4	2	3	3	3	2	3								
alfatokoferolipitoisuus ( $\mu\text{g/g}$ lihaa)	2,28	2,56	2,90	2,58	2,31	2,10	2,41	2,20	0,262	0,050	0,332	0,500	0,651	0,525	0,383	0,373

a) väkirehutaso on ohran ja rypsiivisteen osuus koko dieetin kuiva-aineesta/vrk/eläin

b) rypsiivistelisiä on A-rehun rypsiiviste, jota annettiin 0,5 kg/eläin/vrk ruokintakoejärjestelyn mukaisille eläimille

c) keskiarvon keskivirhe (standard error of mean)

**Taulukko 10. Naudanlihan alfatokoferolipitoisuus ( $\mu\text{g/g}$  lihaa) ruokintakoetekijöittäin, joita ovat rotu (hf=hereford tai ch=charolais), väkirehutaso (20 tai 50 % väkirehua dieetin kuiva-aineesta) ja rypsiivistelisiä (0,5 kg rypsiivistettä tai ei lainkaan rypsiivistettä). Lihanäytteet (*Longissimus dorsi*, ulkofile) ovat MTT:n Ruukin toimipisteessä kasvatetuista liharotuisista naudoista. Aineistossa on yhden ruokintakokeen eläimet, joiden ruokintakoe toteutettiin syksystä 2009 tammikuuhun 2011.**

koe-eläimiä, kpl	Rotu		Väkirehutaso <sup>a</sup>		Rypsiivistelisiä <sup>b</sup>		SEM <sup>c</sup>	Rotu	Ruokinta	Tilastollinen merkitsevyys (P-arvo)				
	hf	ch	20	50	EI	ON				Lisä	Ro×Ru	Ro×Li	Ru×Li	Ro×Ru×Li
alfatokoferolipitoisuus ( $\mu\text{g/g}$ lihaa)	2,58	2,25	2,31	2,52	2,47	2,36	0,262	0,050	0,332	0,500	0,651	0,525	0,383	0,373

a) väkirehutaso on ohran ja rypsiivisteen osuus koko dieetin kuiva-aineesta/vrk/eläin

b) rypsiivistelisiä on A-rehun rypsiiviste, jota annettiin 0,5 kg/eläin/vrk ruokintakoejärjestelyn mukaisille eläimille

c) keskiarvon keskivirhe (standard error of mean)

### 5.3 Säilörehun rasvahappokoostumus

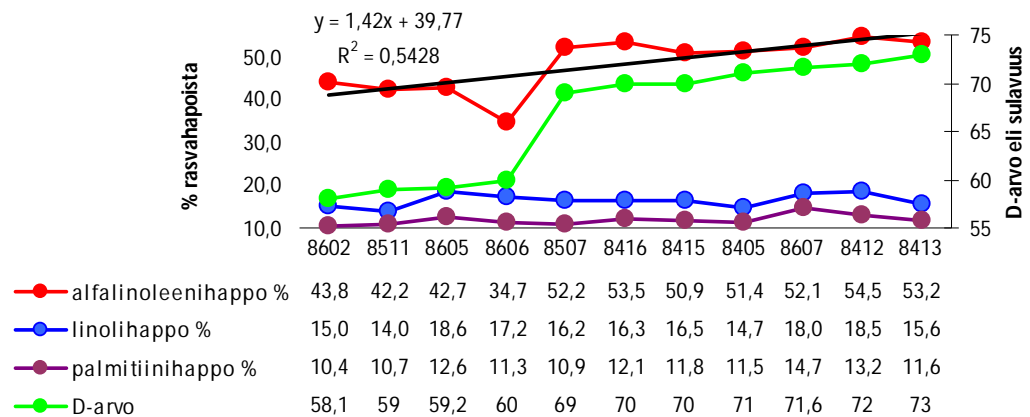
Taulukossa 11 on säilörehuanalyysien tiedot. Rasvahappokoostumus tutkittiin 11 säilörehunäytteestä. Näytteistä viisi oli ensimmäisestä ruokintakokeesta ja kuusi toisesta ruokintakokeesta. Taulukkoon 11 on yhdistetty Valion Seinäjoen rehulaboratorion tekemät sulavuus, raakavalkuais-, neutraalidetergenttikuitu- ja kuiva-ainetiedot. Eniten säilörehuissa on alfa-linoleenihappoa (C18:3 n-3), seuraavaksi eniten linoli- (C18:2 n-6) ja palmitiinihappoa (C16:0).

**Taulukko 11. Säilörehujen rasvahappoanalyysien (% analysoiduista rasvahapoista) ja Valion analyysien tiedot. D-arvo, rv -%, ND-kuitu ja kuiva-ainepitoisuus ovat Valion analysoimia. Tiedot taulukkoon on järjestetty D-arvon mukaiseen nousevaan järjestykseen (Valion analyysitiedot, Arto Huuskonen, MTT).**

säilörehun näyttenumero <sup>a</sup>	D-arvo <sup>b</sup>	rv -% <sup>c</sup>	NDF <sup>d</sup>	kuiva- aine % <sup>e</sup>	alfalinoleiini- happo, C18:3 n-3 <sup>f</sup>	linoli- happo C18:2 n-6 <sup>f</sup>	palmitiini- happo C16:0 <sup>f</sup>	muut rasva- hapot <sup>g</sup>
8602	58,1	10,6	63,7	22,8	43,8	15,0	10,4	30,7
8511	59,0	11,8	64,0	21,6	42,2	14,0	10,7	33,1
8605	59,2	7,8	63,2	20,9	42,7	18,6	12,6	26,1
8606	60,0	7,6	63,0	21,8	34,7	17,2	11,3	36,8
8507	69,0	14,1	55,6	31,6	52,2	16,2	10,9	20,7
8416	70,0	15,0	53,4	42,1	53,5	16,3	12,1	18,0
8415	70,0	15,5	52,4	33,3	50,9	16,5	11,8	20,9
8405	71,0	18,2	53,6	20,7	51,4	14,7	11,5	22,5
8607	71,6	20,3	46,5	37,4	52,1	18,0	14,7	15,2
8412	72,0	16,6	51,0	43,9	54,5	18,5	13,2	13,9
8413	73,0	15,7	49,2	43,0	53,2	15,6	11,6	19,5

- a) näyttenumerot 8405, 8412, 8413, 8415 ja 8416 ovat ensimmäisen ruokintakokeen rehuja, näyttenumerot 8507, 8511, 8602, 8605, 8606 ja 8607 ovat toisen ruokintakokeen rehuja
- b) D-arvo = säilörehun orgaanisen aineen sulavuus
- c) rv - % = säilörehun raakavalkuaispitoisuus
- d) NDF= neutraali detergentti kuitu
- e) kuiva-aine % = säilörehun kuiva-ainepitoisuus
- f) % tutkituista rasvahapoista
- g) muut rasvahapot = 100 – (alfalinoleenihappo + linoli- + palmitiinihappo)

Kuviossa 1 on säilörehuaineisto luokiteltu säilörehun sulavuuden eli D-arvon perusteella kasvavaan järjestykseen. Alfalinoleenihappopitoisuus (C18:3 n-3) kasvaa D-arvon eli sulavuuden lisääntymisen myötä, palmitiini- (C16:0) ja linolihapolle (C18:2 n-6) ei löydy vastaavaa korrelaatiota.



**Kuvio 1.** Säilörehun sulavuuden eli D-arvon mukaan kasvavaan järjestykseen luokiteltu säilörehunäyteaineisto. Alfalinoleenihappopitoisuuden (C18:3 n-3) ja D-arvon välille muodostunut positiivinen korrelaatio ( $R^2 = 0,5428$ ) kertoo siitä, että D-arvon kasvaessa myös säilörehun alfalinoleenihappopitoisuus (C18:3 n-3) kasvaa. D-arvo kuvaa säilörehun raaka-aineen kasvuastetta. Mitä korkeampi D-arvo on, sitä aikaisemmalla kasvuasteella säilörehu on tehty ja sitä korkeampi on sulavuus ja alfalinoleenihappopitoisuus (C18:3 n-3).



## 6 TULOSTEN TARKASTELU

### 6.1 Rodun vaikutus lihan rasvahappokoostumukseen

Tässä tutkimuksessa rotu vaikutti erittäin merkitsevästi useiden kerta- ja monityydyttymätömien rasvahappojen osuuksiin analysoiduista rasvahapoista ja hyvin merkitsevästi n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen. Lihan sisäisen rasvan öljyhappopitoisuus (C18:1 n-9) oli isompi herefordrotuisilla kuin charolaisrotuisilla ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhde oli parempi (pienempi) herefordrotuisilla kuin charolaisrotuisilla. Lihan sisäisen rasvan alfa-linoleeni- (C18:3 n-3), linoli- (C18:2 n-6), vakseeni- (C18:1 n-7), gammalinoleeni- (C18:3 n-6) ja dihomogamma-linoleenihappopitoisuudet (C20:3 n-6) olivat suuremmat charolaisrotuisilla kuin herefordrotuisilla. Tyydyttyneistä rasvahapoista palmitiinihappopitoisuus (C16:0) oli isompi charolaisrotuisilla kuin herefordrotuisilla. Erot rotujen välillä johtuvat siitä, että rasvahapon pitoisuuteen vaikuttaa jokin geeni, jolla on erilainen ilmentyminen rotujen välillä (Ojala 1999).

Tässä tutkimuksessa herefordrotuisilla oli lihaksen sisäisen rasvan öljyhappopitoisuus (C18:1 n-9) suurempi kuin charolaisrotuisilla ( $p < 0,0001$ ). Lihaksen sisäisen rasvan öljyhappopitoisuuteen (C18:1 n-9) vaikuttaa SCD-geeni, joka tuottaa  $\Delta^9$ -desaturaasientsyymiä. SCD-geenin ilmentymiseen vaikuttaa ruokinnan väkirehutaso (Smith ym. 2009). Nogi ym. (2011) saivat öljyhappopitoisuudelle (C18:1 n-9) korkean periytyvyyden (heritabiliteetti 0,78) ja geneettisen vaihtelun (7,26). Heidän tutkimusaineistonaan oli japanilainen blackrotu. Zapletal ym. (2009) eivät saaneet rotujen (czech-fleckvieh ja montbeliarde) välille eroa lihaksen sisäisen rasvan öljyhappopitoisuudessa (C18:1 n-9). Heidän tutkimuksessaan rotujen välillä oli eroa vain palmitiini- (C16:0) ja palmitoleiinihapon (C16:1 n-7) osuuksissa. Samoin tässä tutkimuksessa rotu vaikutti merkitsevästi palmitiinihapon (C16:0) pitoisuuteen ja erittäin merkitsevästi palmitoleiinihapon (C16:1 n-7) pitoisuuteen: molempia rasvahappoja oli enemmän charolaisrotuisilla kuin herefordrotuisilla.

Muchenje ym. (2009) tutkivat kolmen eri liharodun välistä rasvahappopitoisuuksien vaihtelua laidunnukseen perustuvalla ruokinnalla ja saivat merkittävän eron vain dokosaheksaeniin (C22:6 n-3) pitoisuuteen. Merkittävän eron rotujen välille saivat Dance ym. (2009) vain nahanalaisen rasvan koostumuksessa, mutta eivät lihaksen sisäisen rasvan koostumukselle. SCD-geenin tuottama entsyymi katalysoi palmitoleiinihapon (C16:1 n-7) ja konju-

goidun linolihapon (CLA eli C18:2 c9,t11) tuotantoa rasvakudoksessa. Dance ym. (2009) päätelivät, että mekanismi, joka säätelee SCD-geenin ilmentymistä, on kudosspesifinen. Tästä syystä rodusta johtuvat erot SCD-geenin ilmentymisessä ja sitä kautta kertatydyttymättömien rasvahappojen määrässä toteutuvat nahanalaisessa rasvakudoksessa, mutta ei *Semimembranosus*-lihaksessa (sisäpaisti). Konjugoidun linolihapon (CLA eli C18:2 c9,t11) pitoisuudessa ei ollut tässä tutkimuksessa rotujen välillä eroa, mutta öljyhapon (C18:1 n-9) ja palmitoleiinihapon (C16:1 n-7) pitoisuuksissa oli erittäin merkitsevä ero rotujen välillä. Herefordrotuisilla oli öljyhappoa (C18:1 n-9) 38,57 % ja charolaisrotuisilla 35,85 %, palmitoleiinihappoa (C16:1 n-7) oli herefordrotuisilla 3,48 % ja charolaisrotuisilla 3,94 %.

Herefordrotuisilla ruhon rasvaisuus oli suurempi kuin charolaisrotuisilla tässä tutkimuksessa. De Smetin ym. (2004) mukaan ruhon rasvaisuus vaikuttaa lihaksen sisäiseen rasvahappokoostumukseen. Lihaksen sisäistä rasvaa muodostuu vasta sitten kun sisäelinten ja lihasten välistä rasvaa ja nahanalaista pintarasvaa on kehittynyt ruhoon (Allen & Kilkeny 1984, Huuskosen & Lammisen 2010 mukaan).

De Smetin ym. (2004) katsauksen mukaan monitydyttymättömien rasvahappojen osuus on lihan fosfolipideissä 20 – 40 % ja triglyserideissä 1 – 6 %. Lihaksen sisäisessä rasvassa on heidän mukaansa fosfolipidien ja triglyseridien suhde 0,1 – 0,3. Fosfolipideissä on linolihappoa (C18:2 n-6) enemmän kuin triglyserideissä, mutta alfalinoleenihappoa (C18:3 n-3) on saman verran fosfolipideissä kuin triglyserideissä. De Smet ym. (2004) päättelevät, että fosfolipidien ja triglyseridien suhde lihaksen sisäisessä rasvassa muuttuu ruhon rasvaisuuden mukaan ja sen mukaisesti myös n-6/n-3 -rasvahappojen suhde. He väittävät, että hyvin vähärasvaisella ruholla on mahdoton saavuttaa n-6/n-3 -rasvahappojen suhdetta lähelle 1 – 2 riippumatta ruokinnassa tulevasta monitydyttymättömien rasvahappojen määrästä. Aldai ym. (2007) huomasivat n-6/n-3 -rasvahappojen suhteen olevan huomattavasti vähärasvaisilla eläimillä kuin rasvoittuneilla eläimillä, kerta- ja monitydyttymättömien rasvahappojen osuuden olevan suuremman ja tyydyttyneiden rasvahappojen osuuden pienemmän vähärasvaisilla kuin rasvaisilla eläimillä. Tässä tutkimuksessa ei selvitetty ruhojen rasvaisuuden ja eri rasvahappojen pitoisuuksien välistä yhteyttä.

## 6.2 Ruokinnan vaikutus lihan rasvahappokoostumukseen

Tässä tutkimuksessa vertailtiin kahdella eri väkirehutasolla ja rypsiivitelisellä tai ilman rypsiivitelisää olevien liharotuisten teurassonnien lihaksensisäisen rasvan koostumusta. Ruokinnassa oli karkearehuna säilörehu ja väkirehuna ohra sekä osalla eläimistä rypsiivitelisiä. Väkirehutasoiksi valittiin 20 % ja 50 % koko dieetin kuiva-aineesta laskettuna. Rypsiivitelisiä sisältyy väkirehuprosenttiin niillä eläimillä, joilla se kuului ruokintakoejärjestelyjen mukaiseen dieettiin.

Väkirehutaso vaikutti erittäin merkittävästi ( $p < 0,0001$ ) alfaolenihapon (C18:3 n-3) osuuteen tutkituista lihan sisäisen rasvan rasvahapoista. 20 %:n väkirehutasolla olleilla eläimillä oli 0,77 % alfaolenihappoa (C18:3 n-3) ja 50 %:n väkirehutasolla olleilla eläimillä oli 0,54 % alfaolenihappoa (C18:3 n-3) tutkituista rasvahapoista. N-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen väkirehutaso vaikutti myös erittäin merkittävästi ( $p < 0,0001$ ). 20 % väkirehutasolla n-6/n-3 -rasvahappojen suhde oli 3,16 ja 50 % väkirehutasolla 5,03. Samansuuntaisia tuloksia on saatu useissa tutkimuksissa (French ym. 2000, Nuernberg ym. 2005, Faucitano ym. 2008, Garcia ym. 2008, Leheska ym. 2008, Warren ym. 2008, Alfaia ym. 2009, Smith ym. 2009), joissa on vertailtu joko väkirehutason vaikutusta tai laidunrehun tai säilörehun ja seosrehun vaikutusta lihan rasvahappokoostumukseen. Mitä karkearehuvaltaisempi ruokinta on, sitä alhaisempi on n-6/n-3 -rasvahappojen suhde ja sitä suurempi on alfaolenihappopitoisuus (C18:3 n-3) lihan sisäisessä rasvassa (Daley ym. 2010).

Rehuissa, kuten säilörehussa ja laidunruohossa, pötsiin tuleva alfaolenihappo (C18:3 n-3) joutuu biohydrogenaation kohteeksi (Scollan ym. 2003, Jenkins ym. 2008). Biohydrogenaatio lisääntyy karkearehun osuuden lisääntyessä ruokinnassa (Dewhurst ym. 2003), koska pötsin pH nousee ja lipolyysi tehostuu. Pötsin bakteereista *Butyrivibrio fibrisolvens* on kuidun sulattaja, mutta samalla aktiivinen biohydrogenaatiossa ja sen määrä kasvaa karkearehun osuuden lisääntyessä.

Lock ym. (2006) laskivat, että 86 % alfa-linoleenihaposta (C18:3 n-3) hydrataan pötsissä. Scollan ym. (2003) arvioivat alfa-linoleenihaposta (C18:3 n-3) hydrautuvan 90,5 % ja Dewhurst ym. (2003) jopa 100 %. Doreaun & Chillardin (1997) mukaan rasvan määrä rehussa tai yksittäisten rasvahappojen määrä ei vaikuta siihen, minkä osuuden biohydrogenaatio muokkaa rasvoista. Heidän mukaansa alle 60 % tai 70 % biohydrogenaatioon päästään vain silloin kun väkirehua dieetissä on yli 70 %. Glasserin ym. (2008) meta-analyysin mukaan korkea karkearehun osuus ruokinnassa vähentää öljy- (C18:1 n-9), linoli- (C18:2 n-6) sekä alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) virtausta ohutsuoleen. Syyksi he mainitsevat pötsin happamuuden (matala vähentää lipolyysiä), täkkelyksen määrän pienenemisen (vaikuttaa pötsin happamuuteen) ja muutokset pötsin mikrobistossa. Leen ym. (2006) mukaan karkearehu:väkirehusuhteella ei ollut merkitystä ohutsuoleen tulevan alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) määrälle. Ruokinnassa oli pellavaöljyä, jota oli kaikissa koeryhmissä 6 % kuiva-aineen syönistä. Clauss ym. (2008) pitävät edelleen ratkaisemattomana arvoituksena sitä, kuinka märehitijät selviävät vähäisellä välttämättömien rasvahappojen imeytymisellä ohutsuolesta. Tässä tutkimuksessa kuitenkin väkirehutaso vaikutti erittäin merkittävästi alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3, toinen välttämättömistä rasvahapoista) määrään lihaksen sisäisessä rasvassa. Tämän tutkimuksen tulosten perusteella näyttäisi siltä, että mitä karkearehuvaltaisempi ruokinta on, sitä enemmän märehitijät saavat välttämättömiä rasvahappoja ohutsuoleen asti.

Myös kahteen tyydyttyneeseen rasvahappoon (pentadekanoihappo C15:0 ja heptadekaanihappo C17:0) väkirehutasolla oli hyvin merkittävä vaikutus. Kumpaakin oli suhteellisesti enemmän 20 %:n väkirehutasolla kuin 50 %:n väkirehutasolla (pentadekanoihappo C15:0 0,47 % vs. 0,35 % ja heptadekaanihappo C17:0 1,03 % vs. 0,89 %). Samansuuntaiseen vaikutukseen väkirehutason nostolla on päässyt Lee ym. (2006) tutkiessaan ohutsuoleen tulevien rasvahappojen määriä eri väkirehutasoilla sekä Faucitano ym. (2008). Näiden rasvahappojen osuus on kuitenkin suhteellisen pieni tyydyttyneiden rasvahappojen määrästä.

Lihan tyydyttyneistä rasvahapoista palmitiinihappoa (C16:0) ja steariinihappoa (C18:0) on suhteellisesti ja määrällisesti eniten. Tässä tutkimuksessa palmitiinihapon (C16:0) osuus vaihtelee välillä 28,09 % - 31,03 % ja määrä välillä 492 mg/100 g lihaa – 1528 mg/100 g lihaa. Steariinihapon (C18:0) osuus vaihtelee välillä 16,23 % - 19,42 % ja määrä välillä 307 mg/100 g lihaa – 947 mg/100 g lihaa. Väkirehutaso ei vaikuttanut näiden rasvahappojen osuuksiin merkittävästi. Kuitenkin yhteenlaskettuna tyydyttyneiden rasvahappojen määrä oli isompi 20 %:n väkirehutasolla kuin 50 %:n väkirehutasolla (suuntaa antava vaikutus  $p = 0,06$ ). Tyydyttyneiden rasvahappojen osuuteen tutkituista rasvahapoista vaikuttaa kertatyydyttymättömien ja monityydyttymättömien rasvahappojen osuus. Väkirehutaso vaikutti tässä tutkimuksessa merkittävästi lihan öljyhappopitoisuuteen (C18:1 n-9), jota on suurin osuus lihan sisäisen rasvan rasvahapoista (vaihteluväli 34,04 % - 40,13 %). 20 %:n väkirehutasolla olleilla eläimillä öljyhappopitoisuus (C18:1 n-9) oli 36,35 % ja 50 %:n väkirehutasolla olleilla 38,08 % ( $p = 0,02$ ). Öljyhappoa (C18:1 n-9) on lihan rasvahapoista eniten ja se edustaa suurinta osaa kertatyydyttymättömistä rasvahapoista. Öljyhapon (C18:1 n-9) määrään mg/100 g lihaa oli väkirehutasolla hyvin merkitsevä vaikutus ( $p = 0,005$ ) tässä tutkimuksessa. Viljan osuuden lisääntyminen ruokinnassa lisää rasvakudoksessa stearoyl-KoA -desaturaasi (SCD) geenin aktiivisuutta (Smith ym. 2009). SCD-geeni tuottaa  $\Delta^9$ -desaturaasi entsyymiä, joka muuttaa steariinihapon (C18:0) öljyhapoksi (C18:1 n-9) tai muiksi tyydyttymättömiksi rasvahapoiksi rasvakudoksessa.

Tässä tutkimuksessa oli lihan sisäisen rasvan koostumukseen rypsiivisteellisellä merkitystä vain palmitiinihapon (C16:0) osuudelle. Sen osuus on pienentynyt rypsiivisteellisen vaikutuksesta. Alfalinoleenihappoa (C18:3 n-3) sisältävillä rehuilla (pellavansiemenet, kamelinarouhe, rapsipuriste) on saatu lihan sisäisen rasvan n-6/n-3 -rasvahapposuhdetta parannettua useissa tutkimuksissa (Herdmann ym. 2010, Nassu ym. 2011, Juárez ym. 2011, Noci ym. 2011). Tässä tutkimuksessa oli rypsiivisteenä rypsirouhe, jossa on rasvaa 4,5 % ja rypsiivisteiden määrä oli 0,5 kg/eläin/pv eläimille, joille se kuului ruokintakokeen mukaan. Näin eläimen saama rasvan määrä rypsiivisteestä oli 22,5 g/pv, joka on alle 1 % dieetin kuiva-aineesta. He ym. (2011) saivat plasman alfalinoleenipitoisuuden (C18:3 n-3) nousemaan 172,8:sta 829,7:ään  $\mu\text{mol/l}$ , kun dieetin rasvapitoisuus nousi 1,95:sta 6,34:ään % kuiva-aineesta lasketuna. Hen ym. (2011) kokeessa rasvan lisäys tuli säilörehuun perustuvalla ruokinnalla rouhituista pellavan siemenistä.

### 6.3 Rodun ja ruokinnan vaikutus lihan E-vitamiinipitoisuuteen

Tässä tutkimuksessa oli rodulla suuntaa antava vaikutus lihan alfatokoferolipitoisuuteen ( $p=0,05$ ), mutta väkirehutasolla tai rypsilisällä ei ollut vaikutusta. Eläimet saivat koko koeajan viikoittain vitamiinilisää. Tämä tasasi perusrehuissa mahdollisesti olevia alfatokoferolieroja. O'Gradyn ym. (2001) kokeessa lisävitamiinina 300 k.y. alfatokoferolia/kg rehua nosti lihan alfatokoferolipitoisuuden 0,37:stä 1,35:een mg/kg lihaa.

Riittävän korkea alfatokoferolipitoisuus suojaa lihassolujen membraanien lipidejä hapettumiselta. Membraanien fosfolipidit ovat soluissa tapahtuvan hapettumisen ensimmäinen kohde (Decker & Park 2010). Riittävänä tasona pidetään 3 – 4  $\mu\text{g/g}$  lihaa (De la Fuente ym. 2009, Daly ym. 2007). Lihan alfatokoferolitason riittävyyteen vaikuttaa lihan tyydyttymättömien rasvahappojen määrä ja erityisesti alfatokoferolin määrä suhteessa lihan eikosapentaeenihapon (C20:5 n-3) ja dokosaheksaeenihapon (C22:6 n-3) määrään (Mahecha ym. 2009). Tässä tutkimuksessa alfatokoferolia oli yli 2  $\mu\text{g/g}$  lihaa kaikissa ruokintakoeryhmissä. Suurin alfatokoferolipitoisuus oli herefordrotuisilla, jotka olivat olleet 50 % väkirehutasolla ilman rypsiitiivistelisiä ja pienin charolaisrotuisilla 20 % väkirehutasolla ja rypsiitiivistelisen saaneilla eläimillä.

Röhrle ym. (2011) saivat suurimman alfatokoferolipitoisuuden lihaan (2,43  $\mu\text{g/g}$  lihaa) pelkästään laidunnukseen perustuvassa ruokinnassa ja pienimmän alfatokoferolipitoisuuden väkirehuvaltaisella, ohraan perustuvalla ruokinnalla (1,14  $\mu\text{g/g}$  lihaa). Daleyn ym. (2010) katsauksen mukaan laidunruokittujen eläinten lihassa voi olla alfatokoferolia 2,1 – 7,73  $\mu\text{g/g}$  ja väkirehuvaltaisella ruokinnalla olleilla eläimillä 0,75 – 2,92  $\mu\text{g/g}$  lihaa. Vasta ym. (2011) vertasivat kokonaan laidunruokittujen ja kokonaan säilörehuruokittujen tai osittain laidun- osittain säilörehuruokittujen eläinten lihan alfatokoferolipitoisuutta. Erot olivat merkityksettömiä, keskimäärin alfatokoferolia oli 2,26  $\mu\text{g/g}$  lihaa. Merkittävä ero heidän kokeessa oli kokonaan väkirehuvaltaisella (väkirehu/olki) ruokinnalla olleiden eläinten lihan alfatokoferolipitoisuuteen (1,00  $\mu\text{g/g}$  lihaa) verrattaessa em. laidun-, säilörehu- tai näiden yhdistelmillä ruokittuihin eläimiin. Tässä kokeessa ei säilörehun lisääntyminen ruokinnassa (50 % -> 80 % diietin kuiva-aineesta) vaikuttanut lihan alfatokoferolipitoisuuteen merkittävästi (2,52  $\mu\text{g/g}$  lihaa vs. 2,31  $\mu\text{g/g}$  lihaa).

#### 6.4 Säilörehun rasvahappokoostumus

Suomalaisessa naudanlihantuotannossa on säilörehulla ollut aina suuri merkitys. Suomessa märehitijöiden talviruokinta ei onnistuisi lainkaan ilman säilörehua. Säilörehu oli myös tässä tutkimuksessa päärehu joko 80 %:n tai 50 %:n osuudella rehujen kuiva-aineesta laskettuna. Säilörehun rasvahappokoostumus on kasvilajin, -lajikkeen, lannoitustason, kasvuasteen, esi-kuivatuksen ja säilöntäprosessin tulos. Kasvilajeista timoteissa oli pienin alfalinoleenihappopitoisuus (C18:3 n-3) Boufaïedin ym. (2003a) tutkimuksessa. Nyt tutkituissa säilörehuissa oli pelkästään lki-timotei raaka-aineena.

Analysoituja säilörehunäytteitä oli 11 kpl ja ne jakautuivat kahteen eri ruokintakokeeseen. Tästä aineistosta voidaan havaita, että kasvuaste (D-arvolla mitattuna) on vaikuttanut rasvahappopitoisuuteen. Mitä varhaisemmalla kasvuasteella säilörehu on tehty, sitä suurempi osuus siinä on alfalinoleenihappoa (C18:3 n-3). Tämä perustuu Boufaïedin ym. (2003a) mukaan lehtimassan osuuden vähenemiseen kasvuston vanhetessa. Alfalinoleenihappo (C18:3 n-3) sijaitsee kasveissa pääosin lehtivihreässä, jota on eniten lehdissä. Kasvin vanhetessa se korsiintuu ja lehtien osuus laskee, samoin lehtivihreän osuus.

## 7 YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Tässä tutkimuksessa selvitettiin rodun, väkirehutason ja rypsiivitelisän vaikutusta naudan lihan sisäisen rasvan koostumukseen, määrään ja alfatokoferolipitoisuuteen. Rodulla oli erittäin merkitsevä vaikutus öljy- (C18:1 n-9), vakseeni- (C18:1 n-7), linoli- (C18:2 n-6), alfa-linoleeni- (C18:3 n-3), gammalinoleeni- (C18:3 n-6) ja palmitoleiinihapon (C16:1 n-7) suhteellisiin osuuksiin kaikista tutkituista rasvahapoista sekä hyvin merkitsevä vaikutus alfa-linoleenihapon (C18:3 n-3) määrään ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen. Väkirehutasolla oli erittäin merkitsevä vaikutus alfa-linoleeni- (C18:3 n-3), pentadekanoiini- (C15:0) ja heptadekaanihapon (C17:0) suhteellisiin osuuksiin ja n-6/n-3 -rasvahappojen suhteeseen. Väkirehutaso vaikutti erittäin merkitsevästi linolihapon (C18:2 n-6) määrään, hyvin merkitsevästi öljy- (C18:1 n-9) ja gammalinoleenihapon (C18:3 n-6) määrään sekä merkitsevästi rasvahappojen yhteismäärään ja steariinihapon (C18:0) määrään. Rypsiivitelisä vaikutti erittäin merkitsevästi palmitiinihapon (C16:0) suhteelliseen osuuteen. Rodulla oli suuntaa antava vaikutus alfatokoferolin määrään.

Tämän tutkimuksen perusteella voidaan arvioida, että alhainen väkirehutaso naudan ruokinnassa parantaa n-6/n-3 -rasvahappojen suhdetta, vähentää öljyhapon (C18:1 n-9) osuutta ja määrää lihaksensisäisessä rasvassa ja vähentää kokonaisrasvahappojen määrää. Rypsiivitelisän voidaan arvioida pienentävän palmitiinihapon (C16:0) suhteellista osuutta. Tutkimuksen perusteella rodulla ei ole merkitystä rasvahappojen kokonaismäärään, mutta rasvan rasvahappokoostumukseen sillä on merkitystä. Suhteellisen aikaisin kypsyvä, karkearehualtaisen ruokinnan edustaja herefordrotu oli tässä tutkimuksessa parempi lihaksensisäisen rasvan n-6/n-3 -rasvahappojen suhteella ja öljyhappopitoisuudella (C18:1 n-9) mitattuna kuin myöhään kypsyvä, väkirehualtaisen ruokinnan edustaja charolaisrotu. Myös lihan alfatokoferolipitoisuus oli tässä tutkimuksessa herefordrodulla isompi kuin charolaisrodulla, mutta ero ei ollut merkitsevä. Tämän tutkimuksen perusteella voidaan päätellä, että rotuvalinnalla ja ruokinnalla voidaan vaikuttaa lihasen sisäisen rasvan määrään ja koostumukseen.



## LÄHDELUETTELO

- Aldai N, Nájera A I, Martínez A, Celaya R & Osoro K, 2007. Correlation between carcass conformation and fat cover degree, and muscle fatty acid profile of yearling bulls depending on breed and mh-genotype. *Livestock Science* 107: 199 – 212.
- Alfaia C P M, Alves S P, Martins S I V, Costa A S H, Fontes C M G A, Lemos J P C, Bessa R J B, Prates J A M, 2009. Effect of the feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chemistry* 114: 939 – 946.
- Arvidsson K, Gustavsson A-M & Martinsson K, 2009. Effects of conservation method on fatty acid composition of silage. *Animal Feed Science and Technology* 148: 241 – 252.
- Bauman D E, Perfield J W, de Veth M J & Lock A L, 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proceedings of Cornell Nutrition Conference*: 175-189.
- Boufaïed H, Chouinard P Y, Tremblay G F, Petit H V, Michaud R & Bélanger G, 2003a. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science* 83: 501 – 511.
- Boufaïed H, Chouinard P Y, Tremblay G F, Petit H V, Michaud R & Bélanger G, 2003b. Fatty acids in forages. II. In vitro ruminal biohydrogenation of linolenic and linoleic acids from timothy. *Canadian Journal of Animal Science* 83: 513 – 522.
- Bressan M C, Rossato L V, Rodrigues E C, Alves S P, Bessa R J B, Ramos E M & Gama L T, 2011. Genotype & environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on pasture or grain. *Journal of Animal Science* 89: 221 – 232.
- Cabiddu A, Decandia M, Salis L, Scanu G, Fiori M, Addis M, Sitzia M & Giovanni Molle G, 2009. Effect of species, cultivar and phenological stage of different forage legumes on herbage fatty acid composition. *Italian Journal of Animal Science* 8: 277 - 279.
- Daley C A, Abbott A, Doyle P S, Nader G A & Larson S, 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal* 9: 1 – 12.
- Daly C M, Moloney A P & Monahan F J, 2007. Lipid and colour stability of beef from grazing heifers supplemented with sunflower oil alone or with fish oil *Meat Science* 77: 634 – 642.
- Dance L J E, Matthews K R & Doran O, 2009. Effect of breed on fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase protein expression in the *Semimembranosus* muscle and subcutaneous adipose tissue of cattle. *Livestock Science* 125: 291 – 297.
- Dawson L E R, Fearon A M, Moss B W & Woods V B, 2010. Effects of substitution of a proportion of the concentrate in grass silage/concentrate-based diets with extruded lin-

- seed on performance and meat quality of dairy bulls. *Animal Feed Science and Technology* 156: 10 – 18.
- Dawson R M C, Hemington N & Hazlewood G P, 1977. On the role of higher plant and microbial lipases in the ruminal hydrolysis of grass lipids. *British Journal of Nutrition* 38: 225-232.
- Decker E A & Park Y, 2010. Healthier meat products as functional foods. *Meat Science* 86: 49 – 55.
- De la Fuente J, Díaz M T, Álvarez I, Oliver M A, Font i Furnols M, Sañudo C, Campo M M, Montossi F, Nute G R & Cañeque V, 2009. Fatty acid and vitamin E composition of intramuscular fat in cattle reared in different production systems. *Meat Science* 82: 331 – 337.
- Dervishi E, Serrano C, Joy M, Serrano M, Rodellar C & Calvo J H, 2010. Effect of the feeding system on the fatty acid composition expression of the  $\Delta 9$ -desaturase, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha, Gamma, and Sterol Regulatory Element Binding Protein 1 genes in the semitendinous muscle of light lambs of the Rasa Aragonesa breed. *BMC Veterinary Research* 6: 40
- Dervishi E, Serrano C, Joy M, Serrano M, Rodellar C & Calvo J H, 2011. The effect of feeding system in the expression of genes related with fat metabolism in semitendinous muscle in sheep. *Meat Science* 89: 91 – 97.
- De Smet S, Raes K & Demeyer D, 2004. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Animal Research* 53: 81 – 98.
- Dewhurst R J, Scollan N D, Lee M R F, Ougham H J & Humphreys M O, 2003. Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminal products. *Proceedings of the Nutrition Society* 62: 329 - 336.
- Dewhurst R J, Scollan N D, Youell S J, Tweed J K S & Humphreys M O, 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass and Forage Science* 56: 68 – 74.
- Dewhurst R J, Shingfield K J, Lee M R F & Scollan N D, 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology* 131: 168 - 206.
- Doreau M & Chillard Y, 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition* 78: 15 – 35.
- Dyer J A, Vergé X P C, Desjardins R L & Worth D E, 2010. The Protein-based GHG Emission Intensity for Livestock Products in Canada. *Journal of Sustainable Agriculture* 34: 618 – 629.
- Elgersma A, Ellen G, van der Horst H, Muuse B G, Boer H & Tamminga S, 2003. Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne*

- L.), affected by cultivar and regrowth interval. *Animal Feed Science and Technology* 108: 191 - 205.
- Elgersma A, Maudet P, Witkowska I M & Wever A C, 2005. Effects of Nitrogen fertilisation and regrowth period on fatty acid concentrations in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Annals of Applied Biology* 147: 145 - 152.
- Elgersma A, Tamminga S & Dijkstra J, 2006. Lipids in herbage, their fate in rumen of dairy cows and implications for milk quality. *Wageningen UR Frontiers Series* 18: 175 - 194.
- Faucitano L, Chouinard P Y, Fortin J, Mandell I B, Lafrenière C, Girard C L & Berthiaume R, 2008. Comparison of alternative beef production systems based on forage finishing or grain-forage diets with or without growth promotants: 2. Meat quality, fatty acid composition, and overall palatability. *Journal of Animal Science* 86: 1678 – 1689.
- Fredriksson Eriksson S & Pickova J, 2007. Fatty acids and tocopherol levels in M. Longissimus dorsi of beef cattle in Sweden – A comparison between seasonal diets. *Meat Science* 76: 746 – 754.
- French P, Stanton C, Lawless F, O'Riordan E G, Monahan F J, Caffrey P J & A. P. Moloney A P, 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *Journal of Animal Science* 78: 2849 - 2855.
- Garcia P T, Pensele N A, Sancho A M, Latimore N J, Kloster A M, Amigone M A & Casal J J, 2008. beef lipids in relation to animal breed and nutrition in Argentina. *Meat Science* 79: 500 – 508.
- Givens D I, Kliem K E & Gibbs R A, 2006. The role of meat as a source of n - 3 polyunsaturated fatty acids in the human diet. *Meat Science* 74: 209 – 218.
- Glasser F, Schmidely P, Sauvant D & Doreau M, 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. *Animal* 5: 691 – 704.
- Goiri I, Indurain G, Insausti K, Sarries V & Garcia-Rodriguez A, 2010. Ruminal biohydrogenation of unsaturated fatty acids *in vitro* as affected by chitosan. *Animal Feed Science and Technology* 159: 35 – 40.
- Harrison F A & Leat W M F, 1975. Digestion and absorption of lipids in non-ruminant and ruminant animals: a comparison. *Proceedings of the Nutrition Society* 34: 203 – 210.
- Hatfield R D, Jung H-J, Broderick G & Jenkins T C, 2007. Nutritional Chemistry of Forages. Teoksessa: R F Barnes, C J Nelson, K J Moore & M Collins (toim.), *Forages, the science of grassland agriculture*, s. 467 – 485. 791 s. Wiley-Blackwell Publishing.
- He M L, Chung Y H, McAllister T A, Beauchemin K A, Mir P S, Aalhus J L & Dugan M E R, 2011. Inclusion of Flaxseed in Hay- and Barley Silage Diets Increases Alpha-Linolenic Acid in Cow Plasma Independent of Forage Type. *Lipids* 46: 577 – 585.

- Herdmann A, Martin J, Nuernberg G, Wegner J, Dannenberger D & Nuernberg K, 2010. How do n-3 fatty acid (short-time restricted vs unrestricted) and n-6 fatty acid enriched diets affect the fatty acid profile in different tissues of German Simmental bulls. *Meat Science* 86: 712–719.
- Hewavitharana A K, Lanari M C & Becu C, 2004. Simultaneous determination of Vitamin E homologs in chicken meat by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of chromatography A* 1025: 313 – 317.
- Huhtanen P, 1997. Märehtijän ravitsemusfysiologia. Luentomoniste. Osa I. Kotieläintieteen laitos, Märehtijöiden ruoansulatusfysiologia -kurssin moniste. Helsingin yliopisto. Helsinki.
- Huuskonen A, Jansson S, Honkavaara M, Tuomisto L, Kauppinen R & Joki-Tokola E, 2010. Meat colour, fatty acid profile and carcass characteristics of Hereford bulls finished on grazed pasture or grass silage-based diets with similar concentrate allowance. *Livestock Science* 131: 125 – 129.
- Huuskonen A & Lamminen P, 2010. Naudan rasvoittumiseen vaikuttavat tekijät. Teoksessa: A Huuskonen (toim.), Kehitystä naudanlihan tuotantoon I, s. 58 – 74. 114 s. MTT, 31600 Jokioinen.
- Jaakkola S, Kaunisto V & Huhtanen P, 2006. Volatile fatty acid proportions and microbial protein synthesis in the rumen of cattle receiving grass silage ensiled with different rates of formic acid. *Grass and Forage Science* 61: 282–292.
- Jenkins T C, 1993: Symposium:Advances in ruminant lipid metabolism. Lipid Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Science*: 76: 3851 – 3863.
- Jenkins T C, Wallace R J, Moate P J & Mosley E E, 2008. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science* 86: 397 – 412.
- Juárez M, Dugan M E R, Aalhus J L, Aldai N, Basarab J A, Baron V S & McAllister T A, 2011. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Science* 88: 434 – 440.
- Jukola E, Hakkarainen J, Saloniemi H & Sankari S, 1996. Effect of Selenium Fertilization on Selenium in Feedstuffs and Selenium, Vitamin E, and  $\beta$ -Carotene Concentrations in Blood of Cattle. *Journal of Dairy Science* 79: 831 – 837.
- Kaniuga Z, 2008. Chilling response of plants: importance of galactolipase, free fatty acids and free radicals. *Plant Biology* 10: 171–184.
- Katsanidis E & Addis P B, 1999. Novel HPLC analysis of tocopherols, tokotreinols, and cholesterol in tissue. *Free Radical Biology & Medicine* 27: 1137 – 1140.

- Koivunen E, 2010. Timotei-nurminadan ja puna-apilan kasvuasteen ja muurahaishapon anostason vaikutus säilörehun rasvahappokoostumukseen. Pro gradu-tutkielma. 79 s. Maataloustieteiden laitos, Helsingin yliopisto, Helsinki.
- Kämäräinen H, 2011. Ruokinnan ja rodun vaikutus pihvirotuisen naudan (*Bos taurus taurus*) lihan rasvahappokoostumukseen. Projektityö. 31 s. Biotieteiden laitos, Itä-Suomen yliopisto, Kuopio.
- Laborde F L, Mandell I B, Tosh J J, Wilton J W & Buchanan-Smith J G, 2001. Breed effects on growth performance, carcass characteristics, fatty acid composition, and palatability attributes in finishing steers. *Journal of Animal Science* 79: 355 - 365.
- Lee M R F, Tweed J K S, Dewhurst R J & Scollan N D, 2006. Effect of forage:concentrate ratio on ruminal metabolism and duodenal flow of fatty acids in beef steers. *Animal Science* 82: 31 – 40.
- Leheska J M, Thompson L D, Howe J C, Hentges E, Boyce J, Brooks J C, Shriver B, Hoover L & Miller M F, 2008. Effects of conventional and grass-feeding systems on the nutrient composition of beef. *Journal of Animal Science* 86: 3575 – 3585.
- Lock A L, Harvatine K J, Drackley J K & Bauman D E, 2006. Concepts in fat and fatty acid digestion in ruminants. *Proceedings of Intermountain Nutrition Conference*: 85 – 100.
- Lourenço M, Ramos-Morales E & Wallace R J, 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal* 4: 1008 – 1023.
- Lourenço M, Van Ranst G, Vlaeminck B, De Smet S & Fievez V, 2008. Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Animal Feed Science and Technology* 145: 418 – 437.
- Lynch A, Kerry J P, Buckley D J, Morrissey P A & Lopez-Bote C, 2001. Use of high pressure liquid chromatography (HPLC) for the determination of cda-tocopherol levels in forage (silage/grass) samples collected from different regions in Ireland *Food Chemistry* 72: 521 – 524.
- Mahecha L, Nuernberg K, Nuernberg G, Ender K, Hagemann E & Dannenberger D, 2009. Effects of diet and storage on fatty acid profile, micronutrients and quality of muscle from German Simmental bulls. *Meat Science* 82: 365–371.
- Malau-Aduli A E, Siebert B D, Bottema C D & Pitchford W S, 1998. Breed comparison of the fatty acid composition of muscle phospholipids in Jersey and Limousin cattle. *Journal of Animal Science* 76: 766 - 773.
- Malau-Aduli A E O, Edriss M A, Siebert B D, Bottema C D K, Deland M P B & Pitchford W S, 2000a. Estimates of genetic parameters for triacylglycerol fatty acids in beef cattle at weaning and slaughter. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 83: 169 – 180.

- Malau-Aduli A E O, Edriss M A, Siebert B D, Bottema C D K & Pitchford W S, 2000b. Breed differences and genetic parameters for melting point, marbling score and fatty acid composition of lot-fed cattle. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 83: 95 – 105.
- Mannen H, 2011. Identification and utilization of genes associated with beef qualities. *Animal Science Journal* 82: 1 – 7.
- Martineau R, Lapierre H, Ouellet D R, Pellerin D & Berthiaume R, 2006. In situ degradation of timothy conserved as restrictively or extensively fermented silage or as hay. *Canadian Journal of Animal Science* 86: 299–306.
- Martineau R, Lapierre H, Ouellet D R, Pellerin D & Berthiaume R, 2007. Effects of the Method of Conservation of Timothy on Nitrogen Metabolism in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 90: 2870–2882.
- Maynard L A, Loosli J K, Hintz H F & Warner R G, 1979. Digestive processes in different species. *Animal nutrition*. 7. painos. s. 21 – 46. 602 s. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd., New-Delhi.
- McEniry J, O’Kiely P, Clipson N J W, Forristal P D & Doyle E M, 2007. The relative impacts of wilting, chopping, compaction and air infiltration on the conservation characteristics of ensiled grass. *Grass and Forage Science* 62: 470–484.
- MTT 2011. Rehutaulukot ja ruokintasuositukset [verkkójulkaisu]. Jokioinen: MTT Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus. [viitattu 8.5.2011]. Saatavissa: <http://www.mtt.fi/rehutaulukot>.
- Muchenje V, Hugo A, Dzama K, Chimonyo M, Strydom P E & Raats J G, 2009. Cholesterol levels and fatty acid profiles of beef from three cattle breeds raised on natural pasture. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 354 – 358.
- Mutanen M & Voutilainen E, 2007. Vitamiinit ja kivennäisaineet. Teoksessa: A Aro, M Mutanen & M Uusitupa (toim.), *Ravitsemustiede*, s. 144 – 215. 680 s. Kustannus Oy Duodecim, Jyväskylä.
- Müller C E, Möller J, Krogh Jensen S & P. Udén P, 2007. Tocopherol and carotenoid levels in baled silage and haylage in relation to horse requirements. *Animal Feed Science and Technology* 137: 182–197.
- Nassu R T, Dugan M E R, He M L, McAllister T A, Aalhus J L, Aldai N & Kramer J K G, 2011. The effects of feeding flaxseed to beef cows given forage based diets on fatty acids of longissimus thoracis muscle and backfat. *Meat Science* DOI 10.1016. In press.
- Noci F, Monahan F J & Moloney A P, 2011. The fatty acid profile of muscle and adipose tissue of lambs fed camelina or linseed as oil or seeds. *Animal* 5: 134 –147.

- Nogi T, Honda T, Mukai F, Okagaki t & Oyama K, 2011. Heritabilities and genetic correlations of fatty acid composition in longissimus muscle lipid with carcass traits in Japanese Black cattle. *Journal of Animal Science* 89: 615 – 621.
- Nuernberg K, Dannenberger D, Nuernberg G, Ender K, Voigt J, Scollan N D, Wood J D, Nute G R & Richardson R I, 2005. Effect of grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. *Livestock Production Science* 94: 137 – 147.
- O'Grady M N, Monahan F J, Fallon R J & Allen P, 2001. Effects of dietary supplementation with vitamin E and organic selenium on the oxidative stability of beef. *Journal of Animal Science* 79: 2827 – 2834.
- Ojala M, 1999. Kotieläinjalostuksen perusteet. Teoksessa: J Juga, K Maijala, A Mäki-Tanila, E Mäntysaari, M Ojala & J Syväjärvi (toim.), Kotieläinjalostus, s. 36 – 98. 294 s. Suomen Kotieläinjalostusosuuskunta, Gummerus Kirjapaino, Jyväskylä.
- Palladino R A, O'Donovan M, Kennedy E, Murphy J J, Boland T M & Kenny D A, 2009. Fatty acid composition and nutritive value of twelve cultivars of perennial ryegrass. *Grass and Forage Science* 64: 219–226.
- Pesonen M, 2011. Rotujen eroja. Teoksessa: A Huuskonen (toim.), Kehitystä naudanlihan tuotantoon II, s. 33 – 39. 181 s. MTT, 31600 Jokioinen.
- Rule D C, Busboom J R & Kercher C J, 1994. Effect of dietary canola on fatty acid composition of bovine adipose tissue, muscle, kidney, and liver. *Journal of Animal Science* 72: 2735 - 2744.
- Röhrle F T, Moloney A P, Black A, Osorio M T, Sweeney T, Schmidt O & Monahan F J, 2011.  $\alpha$ -Tocopherol stereoisomers in beef as an indicator of vitamin E supplementation in cattle diets. *Food Chemistry* 124: 935 – 940.
- SAS/STAT user's guide. Version 8, Cary, NC. SAS Institute Inc. 3809 s.
- Scollan N D, Lee M R F & Enser M, 2003. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on *Lolium perenne* bred for elevated levels of water-soluble carbohydrate. *Animal Research* 52: 501 – 511.
- Shingfield K J, Jaakkola S & Huhtanen P, 2002. Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on intake, feeding behaviour and milk production of dairy cows. *Animal Science* 74: 383-397.
- Siebert B D, Pitchford W S, Kruk Z A, Kuchel H, Deland M P B & Bottema C D K, 2003. Differences in  $\Delta^9$  Desaturase Activity Between Jersey and Limousin-Sired Cattle. *Lipids* 38: 539 – 543.
- Simopoulos A P, 2002. Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases. *Journal of the American College of Nutrition* 21: 495 – 505.

- Simopoulos A P, 2004. Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio and Chronic Diseases. *Food Reviews International* 20: 77 – 90.
- Smith S B, Gill C A, Lunt D K & Brooks M A, 2009. Regulation of fat and fatty acid composition in beef cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 22: 1225 – 1233.
- Smith S B, Lunt D K, Chung K Y, Choi C B, Tume R K & Zembayashi M, 2006. Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. Review article. *Animal Science Journal* 77: 478 – 486.
- Tike (Maa- ja metsätalousministeriön tietopalvelukeskus), 2011. Kotieläinten lukumäärä. Verkkodokumentti. Saatavilla: <http://www.maataloustilastot.fi/kotielainten-lukumaara>. Viitattu 9.7.2011.
- Vanhatalo A, Kuoppala K, Toivonen V & Shingfield K J, 2007. Effects of forage species and stage of maturity on bovine milk fatty acid composition. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 856 – 867.
- Van Ranst G, Fievez V, De Riek J & Van Bockstaele, 2009a. Influence of ensiling forages at different dry matters and silage additives on lipid metabolism and fatty acid composition. *Animal Feed Science and Technology* 150: 62 – 74.
- Van Ranst G, Fievez V, Vandewalle M, De Riek J & Van Bockstaele E, 2009b. Influence of herbage species, cultivar and cutting date on fatty acid composition of herbage and lipid metabolism during ensiling. *Grass and forage Science* 64: 196 – 207.
- Van Ranst G, Lee M R F & Fievez V, 2011. Red clover polyphenol oxidase and lipid metabolism. *Animal* 5: 512 – 521.
- Vasta V, Luciano G, Dimauro C, Röhrle F, Priolo A, Monahan F J & Moloney A P, 2011. The volatile profile of longissimus dorsi muscle of heifers fed pasture, pasture silage or cereal concentrate: Implication for dietary discrimination. *Meat Science* 87: 282 – 289.
- Vasta V, Makkar H P S, Mele M & Priolo A, 2008. Ruminal biohydrogenation as affected by tannins in vitro. *British Journal of Nutrition*: 1 – 11
- Vasta V, Priolo A, Scerra M & Hallett K, 2009.  $\Delta^9$  desaturase protein expression and fatty acid composition of *longissimus dorsi* muscle in lambs fed green herbage or concentrate with or without added tannins. *Meat Science* 82: 357 – 364.
- Vasta V, Yáñez-Ruiz D R, Mele M, Serra A, Luciano G, Lanza M, Biondi L & Priolo A, 2010. Bacterial and Protozoal Communities and Fatty Acid Profile in the Rumen of Sheep Fed a Diet Containing Added Tannins. *Applied and Environmental Microbiology* 76: 2549–2555
- Warren H E, Scollan N D, Enser M, Hughes S I, Richardson R I & Wood J D, 2008. Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I:



Animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. *Meat Science* 78: 256 – 269.

Wilkinson J M, 2011. Re-defining efficiency of feed use by livestock. *Animal* 5: 1 – 9.

Wolf B, Zneng X, Brüggemann N, Chen W, Dannenmann M, Han X, Sutton M A, Wu H, Yao Z & Butterbach-Bahl K, 2010. Grazing-induced reduction of natural nitrous oxide release from continental steppe. *Nature* 464: 881 – 884.

Zapletal D, Chládek G & Šubrt J, 2009. Breed variation in the chemical and fatty acid compositions of the *Longissimus dorsi* muscle in Czech Fleckvieh and Montbeliarde cattle. *Livestock Science* 123: 28 – 33.

LIITTEET

## Taulukko 12

Liite 1

**Taulukko 12. Naudanlihanäytteen (nro 30) yhdeksän rinnakkaisen rasvahappoanalyysin tulokset yksittäisten rasvahappojen määrinä (mg/100 g lihaa). Rinnakkaiset numerot 1 – 5 laitettiin saman päivän aikana näytteet kaasukromatografille ajoon, näytenumerot 6 – 9 metyloitiin ja laitettiin kaasukromatografille seuraavana päivänä.**

rinnakkaiset:	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
rasvahappo:	mg/100 g lihaa									keskiarvo	keskihajonta	suhteellinen keskihajonta
C12:0			1,27							1,27		0
C14:0	30,63	37,91	43,49	31,96	39,13	31,96	41,60	44,67	41,68	38,12	5,36	14,06
C14:1	6,28	8,00	8,89	6,69	8,25	6,79	9,04	8,84	8,44	7,91	1,06	13,35
C15:0	6,92	8,68	10,09	7,05	8,67	6,88	9,08	10,40	9,54	8,59	1,36	15,82
C16:0	297,62	373,46	420,45	314,38	381,89	316,92	408,46	433,04	405,81	372,45	50,66	13,60
C16:1	44,54	57,78	62,72	48,56	57,44	51,11	64,42	59,42	59,72	56,19	6,68	11,89
C17:0	11,19	13,70	15,92	11,60	14,10	11,46	14,84	16,58	15,48	13,88	2,04	14,70
C17:1	7,67	3,42	4,84	2,67	10,19	2,98	3,30	11,47	3,02	5,51	3,40	61,74
C18:0	171,35	212,46	243,88	179,75	219,12	177,39	227,52	257,74	241,59	214,53	31,84	14,84
C18:1 n-9	328,76	417,11	462,20	346,56	424,76	355,09	456,27	475,30	450,67	412,97	55,47	13,43
C18:1 n-7	33,77	43,13	47,63	35,83	42,84	37,09	47,07	47,08	46,49	42,33	5,41	12,79
C18:2 n-6,LA	20,78	28,28	29,92	25,38	29,45	25,36	30,45	29,66	28,58	27,54	3,14	11,41
C18:3 n-6,GLA	12,75	17,69	18,18	15,27	16,34	16,74	19,68	15,62	17,92	16,69	2,01	12,07
C18:3n-3,ALA	8,79	11,75	13,18	10,39	12,02	10,19	12,59	13,33	12,19	11,60	1,51	13,05
C18:2 c9,t11, CLA	3,52	4,61	4,98	3,63	4,53	3,81	4,91	5,27	5,10	4,48	0,67	14,87
C20:3		6,00	6,27		6,14					6,13	0,13	2,18
yhteensä rasva- happoja mg/100 g lihaa	984,57	1243,98	1393,90	1039,74	1274,88	1053,76	1349,23	1428,43	1346,22	1234,97	167,12	13,53

**Taulukko 13. Yksittäisten rasvahappojen määrät (mg/100 g lihaa) samaan rasvahappojen analyysimenetelmän vaiheeseen (metylointi) asti edenneestä lihanäytteestä (rinnakkaiset 3051 – 30561) ja kaasukromatografilla samasta näytenäytteestä otetut kuusi injektioa (30561 – 30566). Kaikissa näytteissä on sama lihanäyte (nro 30) kuin taulukossa 12, mutta heksaaniin liuotettu rasvahaponäyte on säilytetty jääkaapissa viisi vuorokautta.**

	3051	3052	3053	3054	3055	30561	30562	30563	30564	30565	30566	KESKIARVO	keskihajonta	suhteellinen keskihajonta	KESKIARVO	keskihajonta	suhteellinen keskihajonta	
	mg/100 g lihaa											3051 - 30561		30561-30566				
C12:0	1,35	1,37		1,28	1,36	1,28	1,31		1,27	1,28	1,32	<b>1,33</b>	0,04	3,27	<b>1,29</b>	0,02	1,64	
C14:0	47,18	46,21	43,63	44,84	44,15	44,26	45,10	43,55	44,60	44,65	45,57	<b>45,04</b>	1,37	3,04	<b>44,62</b>	0,69	1,56	
C14:1	10,09	9,64	9,33	9,51	9,38	9,36	9,56	9,29	9,47	9,54	9,69	<b>9,55</b>	0,29	2,99	<b>9,49</b>	0,15	1,53	
C15:0	10,65	10,22	9,83	10,02	9,84	9,98	10,04	9,89	9,81	9,89	10,13	<b>10,09</b>	0,31	3,04	<b>9,96</b>	0,12	1,17	
C16:0	465,51	450,08	432,98	440,23	425,74	430,06	435,04	424,34	429,99	435,26	441,15	<b>440,77</b>	14,84	3,37	<b>432,64</b>	5,79	1,34	
C16:1	69,65	67,52	64,55	66,05	64,05	64,99	65,80	64,40	65,01	65,89	66,71	<b>66,14</b>	2,12	3,20	<b>65,46</b>	0,83	1,26	
C17:0	17,23	16,64	16,13	16,33	15,73	15,93	16,09	15,75	15,88	16,12	16,35	<b>16,33</b>	0,54	3,31	<b>16,02</b>	0,21	1,33	
C17:1	12,58	3,29	3,35	3,34	3,41	3,19	3,41	3,33	3,42	3,61	3,43	<b>4,86</b>	3,78	77,87	<b>3,40</b>	0,14	4,09	
C18:0	267,32	259,47	250,16	253,04	242,62	246,04	247,73	243,78	246,03	250,07	253,68	<b>253,11</b>	9,07	3,58	<b>247,89</b>	3,52	1,42	
C18:1 n-9	519,19	502,62	484,84	490,85	471,20	477,25	480,59	472,67	476,95	484,15	490,36	<b>490,99</b>	17,60	3,58	<b>480,33</b>	6,24	1,30	
C18:1 n-7	51,86	50,96	48,27	49,20	46,90	48,45	48,88	47,97	48,66	49,82	50,21	<b>49,27</b>	1,83	3,72	<b>49,00</b>	0,85	1,74	
C18:2 n-6,LA	37,46	35,04	33,38	34,08	32,73	32,93	32,98	32,16	32,73	33,16	33,76	<b>34,27</b>	1,77	5,18	<b>32,96</b>	0,52	1,59	
C18:3 n-6,GLA	19,34	18,85	18,05	18,65	17,71	18,91	5,94	18,51	18,79	19,19	19,50	<b>18,59</b>	0,60	3,25	<b>16,81</b>	5,33	31,73	
C18:3n-3,ALA	15,02	14,21	14,91	14,95	13,33	13,81	19,00	13,18	13,28	13,53	13,61	<b>14,37</b>	0,70	4,90	<b>14,40</b>	2,27	15,73	
C18:2																		49,23
c9,t11, CLA	5,61	5,40	5,33	5,36	5,12	5,31	13,44	5,30	5,29	5,36	5,51	<b>5,36</b>	0,16	2,93	<b>6,70</b>	3,30		
C20:3	7,65	7,44	7,40	7,54	7,17	6,87	5,40	6,85	7,02	7,08	7,11	<b>7,35</b>	0,28	3,84	<b>6,72</b>	0,66	9,75	
yhteensä rasvahappoja mg/100 g lihaa	1582,02	1511,08	1442,14	1465,25	1410,44	1428,62	1446,84	1410,97	1428,20	1448,61	1468,10	<b>1473,26</b>	63,61	4,32	<b>1438,56</b>	20,05	1,39	