

Kehitysasteen ja säilöntäaineen vaikutus valkolupiini-vehnäsäilörehun käymislaatuun ja aerobiseen stabiilisuuteen

Walter König¹, Laura Puhakka¹, Marjukka Lamminen¹, Kirsten Weiss², Aila Vanhatalo¹, Seija Jaakkola¹

¹⁾ Maataloustieteiden laitos, PL 28, Koetilantie 5, 00014 Helsingin yliopisto, walter.konig@helsinki.fi

²⁾ U Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Invalidenstraße 42, 10115 Berlin

Tiivistelmä

Palkoviljat voivat tehostaa kotimaista maidontuotantoa ja lisätä valkuaisrehujen omavaraisuutta. Lisäksi eri palkoviljalajeilla on tärkeä merkitys osana viljelykiertoa. Palkoviljasta voidaan hyödyntää pelkät siemenet tai koko kasvuston voi korjata kokoviljasäilörehuna. Palkoviljojen säilömistä vaikeuttaa kasvuston pieni kuiva-aine- ja sokeripitoisuus ja suuri puskurikapasiteetti. Tässä kokeessa tutkittiin valkolupiinin (*Lupinus albus* L.) säilöntää seoksena kevätvehnän kanssa.

Säilörehun raaka-aineena oli Ludic-valkolupiini ja Amaretto-kevätvehnä, jotka kasvatettiin seoksena. Rehut korjattiin kahdessa kasvuvaiheessa vehnän ollessa taikinatuleentumisen alussa (1) ja lopussa (2) 13. ja 27.8.2012. Niiton jälkeen kasvilajeista yhdistettiin kaksi seosta, joista toisessa oli 1/3 valkolupiinia + 2/3 vehnää ja toisessa 2/3 valkolupiinia + 1/3 vehnää. Rehut säilöttiin ilman esikuivausta 1,5 litran laboratoriosiiiloihin. Säilöntäainekäsittelyt olivat painorehu (PR) eli ei säilöntäainetta, muurahaishappo (MH) 4 l/tn 100 %:na happona, natriumnitriitin ja heksamiinin (heksametyleenitetramiinin) seos (NaHe) 3 l/tn ja homofermentatiivinen maitohappobakteerivalmiste (LAB) 1×10^6 pmy/g. Siilot avattiin kolmen kuukauden säilönnän jälkeen, jolloin rehuista otettiin analyysinäytteet ja niiden aerobista stabiilisuutta mitattiin 12 päivän ajan.

Painorehun säilönnällinen laatu oli huono voihappokäymisen vuoksi. Suurimmat määrät mitattiin kasvuasteella 1 valkolupiinin osuuden ollessa 1/3. Voihappokäymisen vuoksi myös painorehun pH- ja ammoniakkiarvot olivat suuret ja jäännössokerin määrä pieni. Kaikki säilöntäainekäsittelyt paransivat rehun laatua painorehuun verrattuna, mutta säilöntäaineiden välillä oli selkeitä eroja. MH-rehujen laatu oli huono, sillä kaikissa rehuissa esiintyi runsasta voihappokäymistä ja osassa rehuista pH oli kohonnut. NaHe-rehujen laatu oli hyvä, jota osoitti käymistuotteiden pienet pitoisuudet. Biologinen säilöntäaine (LAB) tuotti kasvuasteella 1 molemmista seoksista hyvää rehua ilman voihappoa. Sen sijaan kasvuasteen 2 rehujen laatu oli huono voihappokäymisen takia. pH-arvot olivat voihappokäymisestä huolimatta pieniä, mutta ammoniakkipitoisuudet olivat suuria. Etikkahapon pitoisuus oli kaikissa koerehuissa alle 20 g/kg ka ja kaikki rehut olivat aerobisesti stabiileja.

Valkolupiini- kevätvehnäseoksen säilöntä on tämän kokeen perusteella haastavaa. Suurimmat voihappomäärät mitattiin painorehussa aikaisemman kasvuasteen seoksissa. Painorehun huono laatu oli odotettavissa rehukasvin säilöntäominaisuuksien takia. MH-rehujen laatu oli poikkeuksellisen huono vaikka MH-käsittely laski rehumassan pH:n heti säilöntäainekäsittelyn yhteydessä erittäin alas (noin 3,6). LAB-käsittely toimi hyvin aikaisessa kehitysvaiheessa, mutta tulos oli huono myöhemmin korjatussa rehussa. Paras ja tasaisin rehun laatu saatiin NaHe-käsittelyllä. NaHe-rehujen laatu oli pienen voihappo-, etikkahappo- ja ammoniakkipitoisuuden perusteella hyvä vaikka pH olikin joissain rehuissa melko korkea.

Avainsanat: säilörehu, säilöntäaine, käymislaatu, aerobinen stabiilisuus, palkovilja, valkolupiini

Johdanto

Palkokasvien viljely lisää kotimaisten valkuaisrehujen omavaraisuutta ja vähentää riippuvuutta typpi-lannoituksesta. Toimiva kasvinvuorotus ja maan kasvukunnon ylläpito edellyttää useiden eri typensitojakasvilajien käyttöä. Lupiinit (*Lupinus*) ovat hernekasveihin kuuluvia yksivuotisia palkokasveja. Eri lupiinilajeista viljellään rehuksi ainakin sini-, valko- ja keltalupiinia. Valkolupiini (*Lupinus albus* L.) tunnetaan hyvänä biomassan tuottajana kokoviljasäilörehuna (Azo ym. 2006) ja viherlannoituksessa. Valkolupiinin siemenet eivät ehdi valmistua Suomen kasvuoloissa, joten rehukäytössä tulee kyseen vain korjuu kokoviljasäilörehuna.

Puhtaan palkokasviviljelmän säilöntä on haastavaa suuren puskurikapasiteetin sekä pienen kuiva-aine- ja sokeripitoisuuden takia. Tämän vuoksi valkolupiinin viljely seoksena viljakasvien kanssa on tarpeen. Viljakasvuston puskurikapasiteetti on pienempi ja kuiva-ainepitoisuus suurempi ilman esikuivatusta sekä nurmiheinäkasveihin että palkokasveihin verrattuna. Taikinatuulentumisen alkuvaiheessa siinä on myös sokeria kohtuullisesti.

Happamuuteen perustava säilöntä edellyttää rehun pH:n laskua nopeasti tasolle, jolla voihamppokäyminen ja muu virhekäyminen estyy. Säilöttävän kasvin suuri puskurikapasiteetti ja pieni vesiliukoisten sokerien pitoisuus vaikeuttavat pH:n laskua. Puskurikapasiteettiin vaikuttavat kasvin emäk-siset kivennäisaineet, kasvihatot ja proteiinit, jotka sitovat happoa. Toisaalta pieni sokerimäärä ei riitä tarpeellisen maitohappomäärän tuottamiseen, kun säilöntä perustuu pelkästään käymiseen painorehussa tai biologisia säilöntäaineita käytettäessä. Kuiva-ainepitoisuuden ollessa pieni biologinen säilöntä on vaativaa. Biologisten säilöntäaineiden edut tulevat esille vasta, kun rehut voidaan esikuivata (Muck ja Kung 1997).

Vaihtoehto pH-laskuun perustuville säilöntäaineille on kemikaaliseos, joka sisältää natriumnitriittiä ja heksamiinia. Tämä seos estää suoraan kemikaalien avulla haittamikrobien toimintaa ja edistää näin luonnollisten maitohappobakteereiden toimintaa (Hellberg 1967). Säilönnällinen vaikutus ei perustu pH-laskuun vaan natriumnitriitin ja heksamiinin bakteriosidiseen yhdysvaikutukseen haittamikrobeihin (Reuter ja Weissbach 1991). Heksamiinin hajoamisen väliaine on formaldehydi, joka tuhoaa myös haittamikrobien itiöitä (Setlow 2006). Reuter ym. (1989) totesivat lukuisten kokeiden perusteella, että natriumnitriitin ja heksamiinin seoksella käsitellyt rehut lisäsivät voihamppovapaiden rehujen määrää ja rehun vapaaehtoista syöntiä verrattuna muurahaishapolla käsitelyihin rehuihin.

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tutkia kahdessa kehitysvaiheessa valkolupiinin säilöntää kokoviljasäilörehuksi seoksena kevätvehnän kanssa. Tutkimuksessa verrattiin kolmea erityyppistä säilöntäainetta.

Aineisto ja menetelmät

Koerehut tehtiin kesällä 2012 Viikin opetus- ja tutkimustilan Museopellon lohkolta. Valkolupiinin (Ludic) ja kevätvehnän (Amaretto) seos kylvettiin 10.5.2012. Kylvötiheys oli lupiinin siemeniä 36 kpl/m² ja vehnän siemeniä 360 kpl/m². Lannoitusmäärä oli 60 kg N/ha. Kasvuston kehitystä hidasti melko viileä ja sateinen alkukesä. Koerehut tehtiin kahdessa kehitysvaiheessa 96 ja 110 päivää kylvön jälkeen. Niitto tehtiin sähkösaaksilla ja sirpillä niittokorkeuden ollessa noin 8 cm. Ensimmäisen korjuun aikana kasvuvaiheessa 1 (K1, 13.8.2012) kevätvehnä oli taikinatuulentumisen alussa ja toisen korjuun aikana kasvuvaiheessa 2 (K2, 27.8.2013) taikinatuulentumisen lopussa. Valkolupiinin palot olivat vihreitä ja kehittymässä niin, että ensimmäisessä korjuussa palon seinämät olivat pullistuneet hieman ja siemenet täyttivät 50 % palkojen väliseinien välisestä tilasta (vaihe 4.2). Toisessa korjuussa siemenet täyttivät 75 % väliseinien välisestä tilasta (vaihe 4.3) (Dracup ja Kirby 1996). Niiton jälkeen valkolupiini ja kevätvehnä lajiteltiin ja silputtiin erikseen näytesilppurilla. Kasvilajeista tehtiin kaksi seosta: seos1 (S1) 1/3 valkolupiinia + 2/3 kevätvehnää tuorepainosta ja seos 2 (S2) 2/3 valkolupiinia + 1/3 kevätvehnää tuorepainosta.

Säilöntäkokeessa käytettiin kolmea erilaista säilöntäainetta ja kontrollina oli painorehu (ei säilöntäainetta). Säilöntäaineet olivat muurahaishappo (MH) 4 litraa/t ilmaistuna 100 %:na haponna, maitohappobakteeri (LAB) *Lactobacillus plantarum* (DSM no 3676 ja 3677) 1 000 000 pesäkkeitä muodostavaa yksikköä (pmy)/g sekä natriumnitriitin (0,75 kg/t) ja heksamiinia (heksametyleenitetramiini) (0,5 kg/t) seos (NaHe). Natriumnitriitin ja heksamiinin käytön tavoitteena on estää suoraan klostridien toimintaa. Koerehut tehtiin 1,5 litran lasisiin laboratoriosiiiloihin. Jokaisesta neljästä säilöntäkäsitte-

lystä tehtiin kolme rinnakkaista siloa. Säilöntäaineiden lisäyksen jälkeen raaka-ainemassasta mitattiin pH.

Silot avattiin 100 (kasvuaste 1) ja 101 (kasvuaste 2) päivää säilönnästä, jolloin niistä otettiin näytteet analyyseihin ja aerobisen stabiilisuuden määrittämistä varten. Rehuista analysoitiin kuiva-aine, pH, tuhka, typpi ja ammoniumtyppi Helsingin yliopistossa ja vesiliukoiset hiilihydraatit, maitohappo, haihtuvat rasvahapot ja alkoholit Saksassa Berliinin yliopistossa. Aerobisen stabiilisuuden mitauksessa rehunäyte laitettiin heti silon avauksen jälkeen muovipussiin ja muovipussi styroksilaatikoon. Sekä muovipussin että styroksilaatikon pohjassa oli aukko, jolla varmistettiin ilman virtaus rehun läpi. Laatikot säilytettiin 12 päivää kasvatuskaapissa 20 asteen lämpötilassa. Rehun lämpötila rekisteröitiin rehuun sijoitetuilla dataloggereilla.

Säilörehujen laatuparametrien tilastollinen testaus tehtiin erikseen neljän eri raaka-aineen rehuille (K1S1, K1S2, K2S1, K2S2). Normaalisti jakautuneet muuttujat testattiin varianssianalyysillä (SAS 9.3 Mixed proseduuri) ja käsittelyiden neliösumma jaettiin seuraaviin ortogonaalisiin kontrasteihin: 1) painorehu vs. säilöntäaineilla käsitellyt rehut 2) maitohappobakteereilla käsitelty LAB-rehu vs. kemiallisilla säilöntäaineilla valmistetut MH- ja NaHe-rehut ja 3) MH-rehu vs. NaHe-rehu. Ei-normaalisti jakautuneet muuttujat testattiin ei-parametrisella Kruskal-Wallis testillä (SPPS, versio 21) ja käsittelyiden erot selvitettiin parittaisella keskiarvotestillä.

Tulokset ja tulosten tarkastelu

Valkolupiinin kuiva-ainepitoisuus oli erittäin pieni molempina tekokertoina (taulukko 1). Toisella kerralla pitoisuutta vähensi myös hyvin sateinen sää juuri ennen rehuntekoa. Vehnän suuremman kuiva-ainepitoisuuden vuoksi säilöttyjen seosten kuiva-ainepitoisuus oli kuitenkin noin 300 g/kg, kun lupiinin osuus oli 1/3 ja vastaavasti noin 220 g/kg osuuden ollessa 2/3. Sokeripitoisuuden perusteella ensimmäisen kehitysasteen seokset olivat kohtuullisen vaikeasti säilöittäviä ja toisen kehitysasteen seokset vaikeasti säilöittäviä.

Kaikki säilöntäainekäsittelyt paransivat rehun laatua painorehuun verrattuna, mutta säilöntäaineiden vaikutuksissa oli eroja. Säilöntäaineiden toimivuus oli myös osittain erilaisia eri raaka-aine-erissä kehitysasteen ja valkolupiinin osuuden vaihdelta (taulukot 2 ja 3). Säilöntäaineiden välisissä vertailuissa tuli selvästi esiin valmistajien erilaiset toimintaperiaatteet. Yhteinen piirre kaikille rehulle oli suhteellisen pieni etikahapon määrä. Pitoisuus oli raaka-aine-erästä ja säilöntäaineesta riippumatta alle 15 g/kg ka. Myös alkoholipitoisuudet olivat pieniä kaikissa muissa rehuissa paitsi K1S1 painorehussa. Kaikki rehut olivat myös aerobisesti täysin stabiileja 12 vuorokauden mittausaikana.

Ei säilöntäainetta (painorehu) vs säilöntäaineet

Valkolupiinin ja kevätvehnän seosten säilöntä oli tässä kokeessa hyvin haastavaa. Raaka-aine erästä riippumatta painorehun laatu oli huono, joka kuvastaa rehukasvin epäedullisia säilöntäominaisuuksia. Ensimmäisen kehitysasteen molempien seosten rehuissa painorehun laatu oli erittäin heikko arvioituna pH:n ja ammoniakki-, voihappo- sekä etanolipitoisuuden perusteella. Näiden laatuparametrien arvot olivat selvästi huonompi kuin säilöntäaineilla tehtyjen rehujen ($P < 0,001$). Toisen kehitysasteen seoksissa painorehun pH oli lähellä neljää, mutta voihappo- ja ammoniakkipitoisuudet olivat edelleen suuria osoittaen rehun huonon laadun. Laatuparametrit eivät kuitenkaan toisella tekokerralla eronneet keskimäärin kaikilla säilöntäaineilla tehdyistä rehuista ($P > 0,05$), koska myös MH- ja LAB-rehujen laatu oli huono ja voihappo- ja ammoniakkipitoisuudet suuria.

Maitohappobakteeri vs kemialliset säilöntäaineet

Biologisen säilöntäaineen tulos oli hyvä aikaisessa kehitysvaiheessa, mutta se tuotti huonoja tuloksia myöhemmin korjatussa rehussa. LAB-rehujen pH oli alempi (vähintään $P < 0,01$) kuin kemiallisilla säilöntäaineilla tehtyjen MH- ja NaHe-rehujen lukuun ottamatta K2S2-rehua. Alhainen LAB-rehujen pH oli seurausta riittävästä maitohappokäymisestä, jonka seurauksena maitohappopitoisuus oli edellä

mainituissa rehuerissä suurempi ja sokeripitoisuus pienempi kuin MH- ja NaHe-rehujen ($P < 0,01$). Voihappoa esiintyi toisen kehitysvaiheen LAB-rehuissa määriä (1,9 ja 1,6 g/kg tuoretta rehua), jotka ylittävät hyvälaatuisessa rehun raja-arvon (1 g/kg). Ero keskimäärin MH- ja NaHe-rehuihin ei ollut merkitsevä, koska myös MH-rehussa esiintyi suuria pitoisuuksia voihappoa.

Muurahaishappo vs natriumnitriitti + heksamiini

Kemiallisten säilöntäaineiden keskinäisessä vertailussa ensimmäisen kehitysvaiheen MH-rehujen pH oli matalampi kuin NaHe rehujen ($P < 0,01$). Toisessa kehitysvaiheen S1-rehuissa MH-rehun pH oli korkeampi ($P < 0,001$) kuin NaHe-rehun, mutta S2-rehuissa ei ollut merkitsevää eroa. Rehunteon yhteydessä muurahaishappo laski raaka-ainemassan pH:n tehokkaasti alas sen ollessa noin 3,6 kaikissa neljässä rehuerässä. Alhainen pH ei kuitenkaan säilynyt vaan MH-rehujen pH:t olivat kohonneet lähtötilanteesta.

Molemmat kemialliset säilöntäaineet rajoittivat käymistä, jonka vuoksi rehujen sokeripitoisuuksissa ei ollut eroja missään rehuerässä. Maitohapon määrä oli kuitenkin NaHe-rehuissa suurempi ($P < 0,001$) lukuun ottamatta K1S2-rehuja. Toisaalta keskimääräinen MH-rehun voihappopitoisuus oli kaikissa rehuerissä selvästi suurempi kuin NaHe-rehun. Ero oli kuitenkin merkitsevä ainoastaan K2S1-rehuissa ($P < 0,001$) johtuen rinnakkaissiilojen suuresta vaihtelusta muissa raaka-aine-erissä. K1S2-rehuja lukuunottamatta MH-rehujen käymishappopitoisuus oli merkitsevästi pienempi kuin NaHe-rehujen ($P < 0,05$). Samalla maitohapon osuus käymishapoista oli MH-rehuissa NaHe-rehuja pienempi eron ollessa merkitsevä K2-rehuissa.

Ammoniakkipitoisuus oli NaHe-rehuissa suurempi kuin MH-rehuissa ensimmäisessä kehitysvaiheessa ($P < 0,05$). Toisen kehitysvaiheen rehuissa erot eivät olleet merkitseviä. Kun NaHe-säilöntäaineessa lisättyjen tyyppiyhdisteiden oletettiin hajoavan kokonaan ammoniakiksi, oli K1S1 rehuissa laskennallisesti korjattu ammoniakkitypen osuus NaHe-rehussa pienempi kuin MH-rehussa ($P < 0,05$). Muissa rehuerissä erot eivät olleet merkitseviä.

MH-rehujen laatu oli yllättävän huono. Rehun raaka-aineen nopeasta pH:n laskusta huolimatta voihappoa esiintyi kaikissa MH-rehuissa yli hyvän rehun laaturajan. Rehujen pH-arvo nousi säilönnän aikana niin, että suurin pH mitattiin kasvuasteella 2 seoksen 1 rehussa (pH 4,69). Muurahaishapon antimikrobinen vaikutus perustuu ei-dissosioituneeseen happomolekyyliin. Muurahaishapon pK_a -arvo on 3,78. Tällä pH-tasolla 50 % muurahaishapon molekyyleistä on dissosioinut. Tämän perusteella tässä kokeessa muurahaishapon bakteriosidinen vaikutus ei ollut riittävä korkean pH:n takia. Säilövä vaikutus perustui todennäköisesti enemmän happovaikutukseen, joka kuitenkin ei ollut riittävä.

MH-rehujen huonoon säilönnälliseen laatuun saattoi toisaalta vaikuttaa nimenomaan rehun nopea pH-lasku säilöntäaineen lisäyksen yhteydessä. Säilönnän alkuvaiheessa toimivat enterobakteerit muuttavat osan kasvin nitraattista nitriitiksi, joka estää klostridien kasvua. Kun rehun pH-laskee nopeasti, enterobakteereiden toiminta estyy (McDonald ym. 1991). Myös Kaiser ym. (2005) totesivat, että tuoreessa rehussa tarvitaan alhaisen pH:n lisäksi suoraan klostridien aktiivisuuteen vaikuttava inhibiittori. Paras ja tasaisin rehun laatu saavutettiin NaHe-käsittelyllä. NaHe-rehujen laatu oli hyvä vaikka rehun pH oli joissain rehuissa melko korkea. NaHe:n kemialliset säilöntäaineet vaikuttavat suoraan haittamikrobeihin ja laatu ei ollut samalla tavalla sidoksissa pH-arvoon kuten muissa rehuissa.

Johtopäätökset

Koerehuissa todetun voihappokäymisen perusteella raaka-aineessa oli voihappotiöitä. Tämä siittäkin huolimatta, että raaka-aine kerättiin hyvin puhtaana. Kokoviljatyyppinen rehun raaka-aine saattaa olla enemmän altis voihappotiökontaminaatiolle kuin nurmirehu.

Raaka-aineen vaikean säilöttävyyden vuoksi voihappobakteereiden toiminnan estäminen ei onnistunut ilman säilöntäainetta eikä myöskään kaikkien säilöntäaineiden avulla. Huolimatta vehnän paremmista säilöntäominaisuuksista valkolupiiniin verrattuna, vehnän runsaampikaan käyttö seoksessa ei parantanut riittävästi säilöttävyyttä kaikkien säilöntäaineiden toimivuuden kannalta.

Maitohappobakteereihin perustuva säilöntäaine toimi hyvin vain aikaisemmassa kehitysvaiheessa, kun raaka-aineessa oli enemmän sokeria. Sokeri ja maitohappokäyminen mahdollistivat rehun pH:n laskun riittävän alas voihappokäymisen estämiseksi.

Muurahaishapon suora happovaikutus ei ollut riittävä laskemaan pH:ta pysyvästi tarpeeksi alas voihiappokäymisen estämiseksi. Käytetty annostus esti toisaalta maitohappobakteerien toiminnan ja maitohapon muodostumisen, joka olisi osaltaan voinut ylläpitää alhaista pH:ta.

Natriumnitriitin ja heksamiinin seoksen toiminta perustuu suoraan haittamikrobien toiminnan estoon, jonka seurauksena rehuissa ei esiintynyt juuri lainkaan voihiappoa. Valmiste esti osassa rehuista myös maitohappobakteereiden toimintaa ja maitohapon tuotantoa, jolloin rehun pH jäi melko korkealle. Kokeen perusteella pH ei ole sopiva laatukriteeri arvioitaessa natriumnitriitin ja heksamiinin seoksella käsiteltyjen rehujen laatua.

Kirjallisuus

- Azo, W.M., Lane, G.P.F., Davies, W.P. & Cannon, N.D.** 2012. Bi-cropping white lupins (*Lupinus albus* L.) with cereals for wholecrop forage in organic farming: The effect of seed rate and harvest dates on crop yield and quality. *Biological Agriculture & Horticulture* 28: 86-100.
- Dracup, M. & Kirby, E. J. M.** 1996. Lupin development guide. University of Western Australia Press. 97 p.
- Hellberg, A.** 1967. A combination of nitrite and hexamine as an additive in the ensiling of herbage. *Journal of the British Grassland Society* 22:289-297
- Kaiser, E., Weiss, K. & Polip, I** 2005. New results on inhibition of clostridia development in silages. *Silage production and utilisation*. Proceedings of the XIVth international Silage Conference, Belfast, Northern Ireland. Ed. by: Park, R. S. & Stronge, M. D.
- McDonald, P., Henderson, A R. & Heron, S. J. E.** 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd edition. Chalcombe Publications, Marlow, UK. 340 p.
- Muck, R. E., and Kung, L. Jr.** 1997. Effects of silage additives on ensiling. p.187-199. In *Silage: Field to feed-bunk*. NRAES-99. Proc. North American Conf. Hershey, PA. 11-13 Feb. Northeast Reg. Agric. Eng. Serv., Coop. Ext., Ithaca, NY.
- Reuter, B., Weissbach, F., Schmidt, L. & Zwierz, P. M.** 1989. Investigation on the efficiency of the silage additive Cekafusil. P.69-78. In F.Weissbach (ed) Proc. Int. Symp. Prod. Eval. Feeding Silage. Berlin, Germany. Druckerei, Berlin.
- Reuter, B., & Weissbach, F.** 1991. Results of testing chemical preservatives. Pages 338–341 in Proc. of a Conf. on Forage Conservation towards 2000. G. Pahlow and H. Honig, ed. Institute of Grassland and Forage Research, Federal Research Center of Agriculture (FAL), Braunschweig, Germany
- Setlow, P.** 2006 Spores of *Bacillus subtilis*. Their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal of Applied Microbiology* 101:514-525

Taulukko 1. Raaka-aineiden koostumus (g/kg ka, jos muuta ei mainittu). Seoksessa 1 valkolupiinin ja kevätvehnän suhde 1:2 ja seoksessa 2 suhde 2:1 tuorepainosta.

	Kehitysaste 1				Kehitysaste 2			
	Valko- lupiini	Kevät- vehnä	Seos 1	Seos 2	Valko- lupiini	Kevät- vehnä	Seos 1	Seos 2
Kuiva-aineesta, %								
Valkolupiini			17,7	46,2			16,1	43,4
Kevätvehnä			82,3	53,8			83,9	56,6
Kuiva-aine, g/kg	163	379	307	235	138	359	285	212
Tuhka	70,2	96,2	91,6	84,2	68,7	88,1	85,0	79,7
Raakavalkuainen	184	71	91	123	182	61	81	114
NDF	390	520	497	460	436	525	510	486
Sokeri	126	84	91	103	84	35	43	56
Tärkkelys	30	183	152	113	23	255	218	154
Liukoinen N, g/kg N	360	658	605	520	361	610	570	502
Puskurik., mekv/kg ka	709	297	370	488	687	296	359	466
D-arvo ¹⁾	622	580	587	599	599	584	586	591

1) D-arvo laskettu orgaanisen aineen *in vitro* –sellulaasiliukoisuuden perusteella käyttämällä kokoviljasäilörehun laskentakaavaa

Taulukko 2. Säilöntäaineen vaikutus rehun koostumukseen ja säilönnälliseen laatuun ensimmäisessä kehitysvaiheessa (g/kg kuiva-ainetta, jos ei muuta mainittu). Seoksessa 1 valkolupiinin ja kevätvehnän suhde 1:2 ja seoksessa 2 suhde 2:1 tuorepainosta.

	Säilöntäaineet ¹				SEM	Tilastollinen merkitsevyys		
	PR	MH	NaHe	LAB		PR vs muut	LAB vs MH ja NaHe	MH vs NaHe
Seos 1								
Kuiva-aine, g/kg	290	311	313	309	6,3	0,020	0,677	0,801
Tuhka	91,6	82,4	79,1	79,3	1,88	<0,001	0,537	0,249
Raakavalkuainen	102	91,8	91,0	95,4	2,09	0,004	0,158	0,794
pH	4,53	4,28	5,01	3,75	0,028	<0,001	<0,001	<0,001
Sokeri	29,2	109	113	23,9	5,70	<0,001	<0,001	0,622
Maitohappo	32,5	2,9	17,2	53,0	1,92	0,006	<0,001	<0,001
Etikkahappo	3,24	4,59	10,48	4,75	0,417	<0,001	<0,001	<0,001
Voihappo	37,69 ^a	6,01 ^{ab}	0,00 ^b	0,00 ^b	1,297	Ei normaalisti jakautunut		
VFA yhteensä	42,8	11,1	10,5	4,75	1,42	<0,001	0,008	0,773
Hapot yhteensä ³	75,4	13,9	27,7	57,7	2,91	<0,001	<0,001	0,010
Etanoli	25,23	3,78	2,32	6,37	0,554	<0,001	0,001	0,100
Muut alkoholit ⁴	2,76	1,30	1,82	1,30	0,115	<0,001	0,103	0,013
Amm. N, g/kg N	188	66	107	62	5,2	<0,001	0,005	<0,001
Amm. N, g/kg N ²	188	66	25	62	5,0	<0,001	0,025	<0,001
Seos 2								
Kuiva-aine, g/kg	226	237	240	245	4,1	0,016	0,238	0,556
Tuhka	84,5	75,6	75,4	73,3	1,76	0,001	0,333	0,928
Raakavalkuainen	125	119	107	114	3,15	0,013	0,804	0,028
pH	4,60	4,06	4,67	3,83	0,094	0,005	0,002	0,002
Sokeri	14,2	87,2	112	21,3	17,1	0,017	0,006	0,335
Maitohappo	45,9	24,9	38,4	75,3	7,54	0,974	0,002	0,244
Etikkahappo	7,23	6,79	11,71	7,27	0,718	0,140	0,054	0,001
Voihappo	43,09	9,32	0,54	0,00	3,201	<0,001	0,244	0,089
VFA yhteensä	55,1	19,2	12,5	7,27	4,69	<0,001	0,173	0,344
Hapot yhteensä ³	101	44,2	50,9	82,6	10,1	0,007	0,022	0,649
Etanoli	28,3	5,92	5,42	12,9	0,001	<0,001	0,004	0,815
Muut alkoholit ⁴	4,95	3,33	3,56	3,16	0,411	0,010	0,583	0,711
Amm. N,g/kg N	241	64	127	60	10,3	<0,001	0,023	0,003
Amm. N,g/kg N ²	241	64	37	60	10,3	<0,001	0,480	0,104

¹ PR = ei säilöntäainetta (painorehu), MH = muurahaihapo, NaHe = heksametyleenitetramiinin ja natriumnitriitin seos, LAB = maitohappobakteeri *Lactobacillus plantarum*

² Vähennetty säilöntäaineessa lisätty typpi. Kaikki säilöntäaineessa lisätty N on laskettu korjatussa pitoisuudessa ammoniakitypeksi, koska tarkkaa tietoa muuntumisosuudesta ei ole käytettävissä.

³ Maitohappo+haihtuvat rasvahapot (etikka-, propioni-, isovoi-, voi-, isovaleriaana-, valeriaana- ja kapronihappo)

⁴ Muut alkoholit: metanoli, propanoli, butanoli

Taulukko 3. Säilöntäaineen vaikutus rehun koostumukseen ja säilönnälliseen laatuun toisessa kehitysvaiheessa (g/kg kuiva-ainetta, jos ei muuta mainittu). Seoksessa 1 valkolupiinin ja kevätkuivon suhde 1:2 ja seoksessa 2 suhde 2:1 tuorepainosta.

	Säilöntäaineet ¹					Tilastollinen merkitsevyys		
	PR	MH	NaHe	LAB	SEM	PR vs muut	LAB vs MH ja NaHe	MH vs NaHe
Seos 1								
Kuiva-aine, g/kg	315	311	317	327	5,3	0,583	0,090	0,434
Tuhka	67,1	73,5	68,1	66,4	1,25	0,165	0,022	0,016
Raakavalkuainen	85,4	86,7	82,1	83,5	1,95	0,586	0,710	0,138
pH	4,05	4,69	4,20	4,08	0,047	0,001	<0,001	<0,001
Sokeri	12,7	33,6	39,1	15,0	2,26	<0,001	<0,001	0,125
Maitohappo	41,9	3,8	32,7	34,7	2,37	<0,001	<0,001	<0,001
Etikkahappo	6,37	4,85	9,36	4,26	1,103	0,873	0,068	0,020
Voihappo	4,44	11,6	0,00	5,69	1,526	0,475	0,960	<0,001
VFA yhteensä	10,8	21,9	9,4	10,0	1,71	0,178	0,027	<0,001
Hapot yhteensä ³	52,7	25,6	42,0	44,6	3,12	0,003	0,022	0,006
Etanoli	5,80	3,99	1,61	4,35	0,005	0,002	0,003	0,009
Muut alkoholit ⁴	1,25	0,96	1,64	1,20	0,07	0,834	0,274	<0,001
Amm. N, g/kg N	129	128	124	107	7,5	0,298	0,069	0,728
Amm. N, g/kg N ²	129 ^a	128 ^{ab}	36 ^b	107 ^{ab}	7,3	Ei normaalisti jakautunut		
Seos 2								
Kuiva-aine, g/kg	218	226	229	245	9,5	0,200	0,175	0,857
Tuhka	63,2	75,8	72,6	73,2	2,16	0,003	0,711	0,321
Raakavalkuainen	112	109	106	102	4,85	0,281	0,423	0,655
pH	3,93	4,20	3,96	4,00	0,146	0,501	0,693	0,279
Sokeri	15,3	65,9	30,5	13,4	8,82	Ei normaalisti jakautunut		
Maitohappo	70,4	5,1	57,8	45,8	8,41	0,008	0,201	0,002
Etikkahappo	10,3	8,3	11,7	13,4	2,40	0,770	0,286	0,347
Voihappo	5,16	8,70	0,43	6,51	3,992	0,991	0,700	0,181
VFA yhteensä	15,5	23,5	12,5	20,3	6,85	0,690	0,788	0,290
Hapot yhteensä ³	85,8	28,5	70,2	66,1	9,80	0,026	0,202	0,017
Etanoli	11,3	3,41	3,57	7,55	0,869	<0,001	0,005	0,901
Muut alkoholit ⁴	3,38	2,79	3,27	2,82	0,215	0,128	0,450	0,156
Amm. N, g/kg N	155	112	138	130	21,8	Ei normaalisti jakautunut		
Amm. N, g/kg N ²	155	112	44	130	21,7	Ei normaalisti jakautunut		

¹ PR = ei säilöntäainetta (painorehu), MH = muurahaishappo, NaHe = heksametyleenitetramiinin ja natriumnitriitin seos, LAB = maitohappobakteeri *Lactobacillus plantarum*

² Vähennetty säilöntäaineessa lisätty typpi. Kaikki säilöntäaineessa lisätty N on laskettu korjatussa pitoisuudessa ammoniakitypeksi, koska tarkkaa tietoa muuntumisosuudesta ei ole käytettävissä.

³ Maitohappo + haihtuvat rasvahapot (etikka-, propioni-, isovoi-, voi-, isovaleriaana-, valeriaana- ja kapronihappo)

⁴ Muut alkoholit: metanoli, propanoli, butanoli