

*M a a t a l o u d e n
t u t k i m u s k e s k u k s e n
j u l k a i s u j a*

S A R J A A

55

*Hannu Korhonen
Pirjo Rantamäki
(toim.)*

Maidon uudet sovellukset

Tutkimusohjelman loppuraportti

Hannu Korhonen ja Pirjo Rantamäki (toim.)

Maidon uudet sovellukset

Tutkimusohjelman loppuraportti

Maatalouden tutkimuskeskus

ISBN 951-729-542-1

ISSN 1238-9935

Copyright

Maatalouden tutkimuskeskus

Kirjoittajat

Julkaisija

Maatalouden tutkimuskeskus, 31600 Jokioinen

Jakelu ja myynti

Maatalouden tutkimuskeskus, tietopalveluyksikkö, 31600 Jokioinen

Puh. (03) 4188 2327, telekopio (03) 4188 2339

Painatus

Jyväskylän yliopistopaino 1999

Sisäsivujen painopaperille on myönnetty pohjoismainen joutsenmerkki.

Kansimateriaali on 75-prosenttisesti uusiokuitua.

Korhonen, H.¹⁾ & **Rantamäki, P.**¹⁾ (toim.) 1999. Maidon uudet sovellukset. Tutkimusohjelman lopuraportti. Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisuja. Sarja A 55. Jokioinen: Maatalouden tutkimuskeskus. 126 p. ISSN 1238-9935, ISBN 951-729-542-1

¹⁾ Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen, hannu.j.korhonen@mtt.fi, pirjo.rantamaki@mtt.fi

Tiivistelmä

Avainsanat: alkutuotanto, beva, jatkojalostus, kilpailukyky, maa- ja metsätalousministeriö, maidon tuotanto-ominaisuudet, maito, maitohappobakteerit, ruokinta, terveysvaikutteiset elintarvikkeet

Maa- ja metsätalousministeriön Maidon uudet sovellutukset (MAIUS) -tutkimusohjelma toteutettiin vuosina 1995–1998. Ohjelman strategisena tavoitteena oli Suomen elintarviketalouden kotimaisen ja ulkomaisen kilpailukyvyyn ylläpitäminen ja kehittäminen hyödyntämällä monipuolisesti Suomessa tuotettua maitoa ja sen aineosia. Tutkimusohjelman erityisenä tavoitteena oli löytää maidolle uusia käyttöalueita kehittämällä uusia tuotteita, uusia liikeajatuksia ja uutta liiketoimintaa huomioimalla markkinointinäkökohdat tuotteistamisen yhteydessä. Ohjelman painoaloiksi valittiin seuraavat: maidon alkutuotannon kilpailukyvyyn vahvistaminen, heran jatkojalostuksen kehittäminen, maitoon perustuvien erikoistuotteiden kehittäminen ja maitohappobakteerien hyödyntäminen. Yhteensä ohjelmaan kuului 13 hanketta, joista suurin osa vietiin päätökseen ohjelman aikana. Saatuja tutkimustuloksia on julkaistu tieteellisissä sarjoissa ja alan ammattilehdissä sekä seminaareissa ja kongresseissa. Tutkimusohjelmaan osallistuivat Suomen johta-

vat maitoalan tutkimuslaitokset, yliopistot ja yritykset, joiden välisellä yhteistyöllä oli huomattava vaikutus hankkeiden tulokselliseen toteutumiseen. Myös kotieläinjalostuksen ja maidontuotannon neuvonnan järjestöt osallistuivat eri tavoin ohjelman läpivientiin.

MAIUS-ohjelmassa saatiin kaikilla valituilla painoaloilla merkittäviä tieteellisiä tuloksia, joita voidaan hyödyntää tulevaisuudessa koko maitoketjussa ja siten varmistaa maidon ja maitotuotteiden korkean laatu-tason säilyminen maassamme. Tutkimustulokset lisäävät maidon ravintoarvoa koskevaa tietämystä ja edistävät erityisesti juustoheran ja maitohappobakteerien hyväksikäyttöön liittyvää tuotekehitystä. Tutkimustuloksilla on erityistä merkitystä terveysvaikutteisten elintarvikkeiden kehittämisessä. MAIUS-ohjelmassa saatuja tuloksia voidaan soveltaa pyrittäessä vahvistamaan maidon alkutuotannon ja jalostavan teollisuuden kilpailukykyä sekä edistämään maidon arvostusta ravitsemuksessa.

Alkusanat

Maa- ja metsätalousministeriön tutkimuspoliittisessa linjauksessa vuonna 1995 tuotiin esille maidontuotantoon ja maitoon perustuvien uusien elintarvikkeiden ja non food -tyyppisten tuotteiden tutkimustarpeet. Katsottiin, että Suomen elintarviketalouden kilpailukykyä voitaisiin uudessakin markkinatilanteessa ylläpitää ja kehittää hyödyntämällä mahdollisimman monipuolisesti maitoa ja sen eri ainesosia. Arvioitiin myös, että tutkimuksen ja tuotekehityksen suuntaaminen uusille alueille olisi välttämätöntä maatalouden ja elintarviketalouden merkittävimmän lohkon kehityksen tulevaisuuden kannalta, kun perinteisen maitoon perustuvan tuotannon kehitysmahdollisuudet nähtiin kaventuvina.

Ministeriön tuella käynnistettiin ns. maitotutkimusohjelman valmistelu. Ohjelmatyön pohjalta päätettiin vuosina 1995–1996 aloittaa ja rahoittaa Maidon uudet sovellukset (MAIUS) –tutkimusohjelma. Hankkeet kohdistuivat neljälle painoalueelle: maidon alkutuotannon kilpailukyyn vahvistaminen, heran jatkojalostuksen kehittäminen, maitoon perustuvien erikoistuotteiden kuten esim. terveysvaikutteisten elintarvikkeiden kehittäminen ja maitohappobakteerian hyödyntäminen. Ohjelmalla pyrittiin myös vahvistamaan alan tutkimuslaitosten ja yritysten yhteistyötä.

MAIUS-ohjelman osahankkeet ovat päättymässä. Tulokset ovat monelta osin vahvistaneet sitä tiedollista pohjaa, mitä esim. terveysvaikutteisten maitotuotteiden jatkokehittäminen vaatii ja miten myös alkutuotantoa voidaan kehittää. Ohjelma on lisännyt tutkimuslaitosten yhteistyötä ja luonut hyvää pohjaa jatkotutkimukselle. Useiden tutkimuslöytöjen siirtyminen uuden tuotannon ja yritystoiminnan pohjaksi on jo lähitulevaisuudessa todennäköistä.

MAIUS-ohjelman toteutus ei olisi ollut mahdollista ilman siihen osallistuneiden tutkimuslaitosten omaa rahoituspanosta, jota täydensi useiden yritysten rahana tai asiantuntemuksena saatu lisäpanostus. Kaikkein merkittävintä on kuitenkin ollut tutkimuslaitosten ja tutkijaryhmien osaaaminen ja tutkimusalan kansainvälisen eturintaman tasolle yltäminen.

Maa- ja metsätalousministeriö haluaa kiittää kaikkia tutkimusohjelman toteutukseen osallistuneita tutkijaryhmiä, yrityksiä ja ohjelman johtoryhmän jäseniä toivoen samalla, että ohjelman tieteellinen anti koituisi monin eri tavoin kaikkien maitotietäjien osapuolten hyödyksi mukaan lukien korkealaatuisia, turvallisia ja terveellisiä tuotteita arvostavat kuluttajat.

Jubani Tauriainen

Ohjelman johtoryhmän puheenjohtaja
Maa- ja metsätalousministeriö

Sisällys

Tiivistelmä	3
Alkusanat	4
Johdanto	7
Ohjelman tausta ja tavoitteet	7
Ohjelman toteutus	7
Ohjelman rahoitus	8
<i>Laurila, I.P.</i> Suomen maidontuotannon ja -kulutuksen tulevaisuuden näkymät	11
<i>Korhonen, H.</i> Maidon uudet mahdollisuudet	18
Maidon alkutuotannon kilpailukyvyn vahvistaminen	31
<i>Jaakkola, S., Jalava, T., Saarisalo, E., Huhtanen, P., Skyttä, E., von Wright, A. & Haikara, A.</i> Nurmirehun biologisen säilönnän optimointi	33
<i>Mäntysaari, E., Huhtanen, P., Kaustell, K., Kettunen, A., Lidauer, M., Pösö, J. & Strandén, I.</i> Karjantarkkailun koelypsykohtaisten mittausten käyttäminen eläinravostelussa ja tuotannon ohjauksessa	37
<i>Ojala, M., Ikonen, T. & Ruottinen, O.</i> Lypsylehmien maidon koostumuksen ja laadun sekä juoksettumisominaisuuksien geneettinen parantaminen	47
<i>Shingfield, K., Jaakkola, S., Huhtanen, P., Pabkala, E., Lehtonen, T., Korhonen, H., Salo-Väänänen, P. & Piironen, V.</i> Keskeisten alkutuotantotekijöiden ja prosessoinnin vaikutus maidon laatuun	54
Heran jatkojalostuksen kehittäminen	67
<i>Myllykoski, L. & Soblo, J.</i> Heran integroitu jatkojalostus	69
<i>Tupasela, T. & Korhonen, H.</i> Juustoheran proteiinien eristäminen suodatustekniikalla	75
<i>Rantamäki, P. & Korhonen, H.</i> Heraproteiinien funktionaaliset ominaisuudet ja käyttösovellutukset	80
<i>Alatossava, T., Jaakkola, V.-P., Karppinen, K., Laajala, P., Malinen, H.-L., Marttinen, N., Rytönen, J. & Valkonen, K.</i> Betalaktoglobuliinin rakennebiologiset ominaisuudet ja niiden maitoteknologinen ja immunologinen merkitys	87
Maitoon perustuvien erikoistuotteiden kehittäminen	93
<i>Valtonen, M. & Voutilainen, M.</i> Fysiologisesti tuotettu erikoismaito – melatoniinimaito	95

<i>Marnila, P., Loimaranta, V., Rokka, S., Tenovuori, S., Laine, M., Syväoja, E.-L., Rebberg-Laiho, L. Kosunen, T., Kärkkäinen, P. & Korhonen, H.</i> Immuunimaito- tuotteiden kehittäminen mikrobien aiheuttamien sairauksien ennaltaehkäisyyn ja hoitoon	101
<i>Pakkala, E., Hyvärinen, H. & Korhonen, H.</i> Maidon antioksidanttitekijöiden karakterisointi, eristäminen ja hyväksikäyttö	108
<i>Pihlanto-Leppälä, A. & Korhonen, H.</i> Bioaktiivisten peptidien tuottaminen ja karakterisointi	112
Maitohappobakteerien hyödyntäminen	119
<i>Alander, M., Satokari, R., Saarela, M., Suomalainen, T., Korpela, R., Saxelin, M., Vilpponen-Salmela, T., Mattila-Sandholm, T. & von Wright, A.</i> Probioottisilla maito- happobakteereilla fermentoitujen maitovalmisteiden kliiniset suolistovaikutukset . .	121

Johdanto

Ohjelman tausta ja tavoitteet

Maamme maa- ja elintarviketalous ovat olleet voimakkaan muutoksen alaisina Suomen liittyttyä Euroopan Unionin jäseneksi vuonna 1995. Samana vuonna maa- ja metsätalousministeriö käynnisti nelivuotisen maidontutkimusohjelman (Maidon uudet sovellukset, MAIUS) maidontuotannon ja -jalostuksen kilpailukyvyyn turvaamiseksi muuttuvassa toimintayksikössä.

Maidontutkimusohjelman strategisena tavoitteena oli Suomen elintarviketalouden kotimaisen ja ulkomaisen kilpailukyvyyn ylläpitäminen ja kehittäminen hyödyntämällä monipuolisesti Suomessa tuotettua maitoa ja sen aineosia. Tutkimusohjelman erityisenä tavoitteena oli löytää maidolle uusia käyttöalueita kehittämällä uusia tuotteita, uusia liikeajatuksia ja uutta liiketoimintaa huomioimalla markkinointinäkökohdat tuotteistamisen yhteydessä.

Asetettujen tavoitteiden toteuttamiseksi tutkimusohjelma pyrki suuntaamaan tutkimusta maidon kokonaislaadun jatkuvaan parantamiseen ja erikoistuotteiden kehittämiseen tietyillä painoalueilla. Tutkimusohjelma pyrki hyödyntämään erityisesti maidon prosessoinnista muodostuvia sivutuotteita kuten heraa.

Tutkimusohjelman suunnittelussa huomioitiin koko maitoketju lähtökohtana laatu- ja järjestelmiin perustuva toiminta. Alan teollisuus ja tutkimus pyrittiin saamaan maito-ohjelman kautta kiinteään yhteistyöhön. Suunnittelussa huomioitiin myös Maataloudellisen tutkimuksen neuvottelukunnan ohjelmalyöntölinjat. Tutkimusohjelma laadittiin ensisijaisesti vuosille 1995–1998, mutta pyrkimyksenä oli saattaa alkuun myös pitkäkestoisia hankkeita.

Tutkimusohjelman painoalueiden valinnassa käytettiin erityisesti seuraavia kriteerejä:

- painoalueilla on vahvaa tieteellistä tai käytännön osaamista Suomessa
- painoalueiden tutkimushankkeisiin

liittyy teollista tuotekehitystä ja merkittäviä kaupallisia odotusarvoja

- painoalueisiin liittyvä tutkimustyö lisää maitovalmisteiden kotimaista ja kansainvälistä kilpailukykyä huomioiden myös alkutuotannon vaikutus kilpailukykyyn
- painoalueille on mahdollisuus luoda tai vahvistaa monikeskeistä, syvällistä tutkimusyhteistyötä alan tutkimuslaitosten ja yritysten välille sekä kotimaassa että ulkomaisten yhteistyöosapuolet kanssa.

Tutkimusohjelmaan valittiin seuraavat neljä painoaluetta. Ne jaettiin edelleen tutkimuskohteisiin, joihin hyväksytyt tutkimushankkeet kohdennettiin.

1. Maidon alkutuotannon kilpailukyvyyn vahvistaminen.
 - Eläinjalostuksen kehittäminen osana maidontuotantoketjua
 - Nurmirehuun perustuva ruokinta
 - Maidon laatu ja siihen liittyvät laatu- ja järjestelmät
 - Maidontuotannon taloudellisten tekijöiden kehittäminen maidontuotantoketjussa.
2. Heran jatkojalostuksen kehittäminen.
 - Proteiinien ja pienkomponenttien eristäminen ja tuotteistaminen
 - Heran integroitu biotekninen prosessointi ja tuotesovellukset.
3. Maitoon perustuvien erikoistuotteiden kehittäminen.
 - Bioaktiivisten tekijöiden eristäminen ja tuotteistaminen
 - Erityisravintovalmisteiden kehittäminen.
4. Maitohappobakteerien hyödyntäminen.
 - Probiotit ja niiden vaikutusmekanismit
 - Biologiset rehun säilöntämenetelmät.

Ohjelman toteutus

Maidon uudet sovellukset -tutkimusohjelma toteutettiin vuosina 1995–1998. Jokai-

nen ohjelmaan sitoutunut tutkimuslaitos osallistui ohjelman toteuttamiseen koko sen keston ajan. Hankkeet toteutettiin vuosittain hyväksytyin tutkimus- ja rahoitussuunnitelman mukaan, jonka hyväksyi Maataloudellisen tutkimuksen tieteellinen neuvottelukunta. Tutkimusohjelmaa koordinoimaan perustettiin johtoryhmä. Maa- ja metsätalousministeriön nimeämän johtoryhmän, joka on samalla toiminut ohjelman valvojakuntana, toimintaan ovat osallistuneet puheenjohtajana Juhani Tauriainen (MMM) ja jäsenenä professori Hannu Korhonen (MTT), johtaja Jouko Setälä (Valio Oy) ja hänen seuraajanaan alkutuotannon kenttäpäällikkö Eeva Brofeldt (Valio Oy), johtaja Mervi Sibakov (Tekes), toimitusjohtaja Taavi Tainijoki (Kainuun Osuusmeijeri) ja hänen seuraajanaan projektipäällikkö Hannu Sipiläinen (Kuusamon Osuusmeijeri). Johtoryhmän kokouksiin ovat säännöllisesti osallistuneet myös osahankkeiden vastuulliset johtajat.

Tutkimusohjelman ja väliaikatulosten seurantaan varten järjestettiin vuosittain ns. MAIUS-seminaareja, joissa hankkeista vastaavat tutkijat esittivät tuloksia esitelmien ja postereiden muodossa. Seminaareja pidettiin seuraavasti: Maatalouden tutkimuskeskus, Jokioinen, 14. toukokuuta 1996; Oulun yliopisto, Medipolis, 23. toukokuuta 1997; Helsingin yliopisto, Viikki, 27. tou-

kokuuta 1998. Seminaarit oli suunnattu sekä ohjelmassa mukana olleille tutkimusryhmille että sidosryhmille, erityisesti meijeriteollisuuden edustajille. Seminaarit olivat avoimia myös julkisen sanan edustajille ja saivat laajaa kiinnostusta sekä lehdistössä että radiossa. Osanottajien määrä on ollut noin 70–80 henkeä. Seminaarien esitelmistä tehtiin moniste, joka sisälsi jokaisesta hankkeesta vuoden aikana saatujen tulosten tiivistelmän.

Ohjelman rahoitus

Maa- ja metsätalousministeriö rahoitti maidontutkimusohjelmaa sekä yhteistutkimusvaroilla että Maatilatalouden kehittämisrahaston tutkimusvaroilla yhteensä 11 milj. markalla. Maidontutkimusohjelman kokonaisrahoitus oli 32 milj. mk. Ohjelmaan osallistuneet tutkimuslaitokset ja yliopistot panostivat tutkimushankkeisiin omia resurssejaan ja hankkivat niihin myös muuta julkista tai yksityistä rahoitusta. Myös maidontuotannon neuvonta- ja tukipalvelujärjestöt sekä meijeriteollisuus osallistuivat aktiivisesti ohjelman toteutukseen eri tavoin. Lisäksi hankkeisiin osallistui yhteistyökumppaneina koti- ja ulkomaisia yliopistoja, yrityksiä ja tutkimuslaitoksia. Alla on esitetty hankekohtaisesti rahoituksen jakautuminen ja yhteistyötahot.

Hanke/hankevastaava/rahoituslähteet	mk
Nurmirehun biologisen säilönnän optimointi/MTT/Kotieläintuotannon tutkimus 1996 - 1998	
MMM	450 000
Oma rahoitus (MTT+VTT)	928 000
Muu rahoitus	-
Yhteensä	1378 000

Yhteistyötahot: VTT/Bio- ja elintarviketekniikka

Karjantarkkailun koelypsikohtaisten mittausten käyttäminen eläinravostelussa ja tuotannon ohjauksessa/MTT/Kotieläintuotannon tutkimus 1995 - 1998	
MMM	1220 000
Oma rahoitus	2900 000
Muu rahoitus	1800 000
Yhteensä	5920 000

Yhteistyötahot: Osuuskunta Kotieläinjalostuskeskus - FABA, Maatalouden laskentakeskus Oy, Valio Oy, Maaseutukeskusten liitto

Hanke/hankevastaava/rahoituslähteet**mk**

Lypsylehmien maidon koostumuksen ja laadun sekä juoksettumisominaisuuksien geneettinen parantaminen/HY/Kotieläintieteen laitos
1995 - 1997

MMM 1010 000

Oma rahoitus 470 000

Muu rahoitus 150 000

Yhteensä 1630 000

Yhteistyötahot: Valio Oy, Alueosuuskunta Promilk, Maatalouden laskentakeskus Oy, Osuuskunta Kotieläinjalostuskeskus - FABA, MTT/ Elintarvikkeiden tutkimus, MTT/Kotieläintuotannon tutkimus

Keskeisten alkutuotantotekijöiden ja prosessoinnin vaikutus maidon laatuun/MTT/Kotieläintuotannon tutkimus

1996 - 1998

MMM 2000 000

Oma rahoitus 1570 000

Muu rahoitus -

Yhteensä 3570 000

Yhteistyötahot: MTT/Elintarvikkeiden tutkimus, HY/Elintarvikekemia

Heran integroitu jatkojalostus/OY/Prosessitekniiikan osasto

1995 -1998

MMM 1750 000

Oma rahoitus 2295 000

Muu julkinen rahoitus 2062 000

Yksityinen rahoitus 2553 000

Yhteensä 8660 000

Yhteistyötahot: Kainuun Meijeri, Kuusamon Osuusmeijeri, Kyrönmaan Osuusmeijeri, Laaksojen Maitokunta, Limingan Osuusmeijeri, Osuuskunta Maitokolmio, JK Juusto Kaira Oy, OuluTech Oy, Uniq Bioresearch Oy, Hi-Col Oy, MTT/Pohjois-Pohjanmaan tutkimusasema, MTT/Elintarvikkeiden tutkimus, EELA/Kemian osasto

Juustoheran proteiinien eristäminen suodatustekniikalla/MTT/Elintarvikkeiden tutkimus

1995 - 1998

MMM 601 000

Oma rahoitus 1119 000

Muu julkinen rahoitus 115 000

Yksityinen rahoitus 145 000

Yhteensä 1980 000

Yhteistyötahot: Valio Oy, Pohjois-Savon Liitto, HY/Elintarvike teknologian laitos, OY/Prosessitekniiikan osasto

Heraproteiinien funktionaaliset ominaisuudet ja käyttösovellutukset/MTT/Elintarvikkeiden tutkimus

1995 - 1998

MMM 350 000

Oma rahoitus 840 000

Muu rahoitus 52 000

Yhteensä 1242 000

Yhteistyötahot: Valio Oy, Mississippin yliopisto, USA, VTT/Bio- ja elintarvike tekniikka

β -laktoglobuliinin rakennebiologiset ominaisuudet ja niiden maitoteknologinen ja immunologinen merkitys/OY/Kajaanin kehittämiskeskus

1998

MMM 200 000

Oma rahoitus 150 000

Muu rahoitus	125 000
Yhteensä	475 000

Yhteistyötahot: OY/Lastentautien klinikka, RKTL/Porontutkimusasema, Kainuun Osuusmeijeri

Hanke/hankevastaava/rahoituslähteet

mk

Fysiologisesti tuotettu erikoismaito: Melatoniinimaito/KuY/Soveltavan eläintieteen ja eläinlääketieteen laitos

1995 - 1998

MMM	350 000
-----	---------

Oma rahoitus	318 000
--------------	---------

Muu rahoitus	12 000
--------------	--------

Yhteensä

680 000

Yhteistyötahot: Pohjois-Savon Liitto

Immuunimaitovalmisteiden kehittäminen mikrobeihin liittyvien tautien hoitoon ja ennaltaehkäisyyn/MTT/Elintarvikkeiden tutkimus

1995 - 1997

MMM	435 000
-----	---------

Oma rahoitus	767 000
--------------	---------

Muu rahoitus	366 000
--------------	---------

Yhteensä

1568 000

Yhteistyötahot: HY/Bakteriologian ja immunologian laitos, HY/Patologian laitos, TY/Hammaslääketieteen laitos, TY/Biokemian ja elintarvikekemian laitos, Valio Oy

Maidon antioksidanttitekijöiden karakterisointi, eristäminen ja hyväksikäyttö/

MTT/Elintarvikkeiden tutkimus

1996 - 1998

MMM	540 000
-----	---------

Oma rahoitus	510 000
--------------	---------

Muu rahoitus	120 000
--------------	---------

Yhteensä

1170 000

Yhteistyötahot: Valio Oy, MCA-Laboratorio, HY/Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos

Bioaktiivisten peptidien tuottaminen ja karakterisointi/MTT/Elintarvikkeiden tutkimus

1995 - 1998

MMM	840 000
-----	---------

Oma rahoitus	885 000
--------------	---------

Muu rahoitus	-
--------------	---

Yhteensä

1725 000

Yhteistyötahot: Valio Oy, VTT/Kemiantekniikka, TY/Biokemian ja elintarvikekemian laitos, Corkin yliopisto, Irlanti

Probioottisilla maitohappobakteereilla fermentoitujen maitovalmisteiden kliiniset suolistovaikutukset/VTT/Bio- ja elintarvikekemian tutkimus

1996 - 1998

MMM	900 000
-----	---------

Oma rahoitus	806 000
--------------	---------

Muu rahoitus	-
--------------	---

Yhteensä

1706 000

Yhteistyötahot: Landbouwiniversitet Wageningen, Alankomaat, KuY/Kliinisen ravitsemustieteen laitos, KuY/Biokemian ja biotekniikan laitos, Valio Oy

Suomen maidontuotannon ja -kulutuksen tulevaisuuden näkymät

Ilkka P. Laurila

Maatalouden taloudellinen tutkimuslaitos, PL 3, 00411 Helsinki

Maito on Suomen maatalouden tärkein tuote, ja sen merkitys korostui entisestään EU-jäsenyyden ansiosta. Vuosina 1992–1994 maidon osuus maatalouden markkinahintaisesta tuotosta (ilman puutarhataloutta) oli 37 %, vuosina 1995–1998 noin 47 % (MTTL 1999). Maidontuotannon merkitystä korostaa se, että nurmirehukasveja voidaan viljellä koko maassa, joten myös maitotaloutta voidaan harjoittaa kaikkialla. Päätuotantoalueet ovat Pohjanmaa, Pohjois-Savo ja Pohjois-Karjala. Koko maan viljelykasvien pinta-alasta nurmirehukasvien osuus oli 34 % vuonna 1998. Maidontuotannon alueellista merkitystä kuvaa se, että nurmirehukasvien osuus viljelykasvien pinta-alasta oli Lapissa noin 90 %, Itä-Suomessa noin 60 % ja Etelä-Suomessa noin 20 %.

Karjatalous sopii hyvin Suomeen, sillä nurmikasveissa Suomen luonnonoloista johtuva kilpailukykyhaitta ei ole yhtä vaikea kuin viljakasveissa. Maatilojen kilpailukyyn parantaminen ajaa kasvattamaan yrityskokoa, mutta tuotannon heikkojen kannattavuusnäkökymien ohella tilakoon kasvua rajoittaa saatavilla olevien peltolohkojen sirpaleisuus. Modernin teknologian ja viljelijäperheen työpanoksen hyödyntävä kilpailukykyinen maitotila tarvitsee kuitenkin paljon vähemmän peltoa kuin kilpailukykyinen viljatila, joten peltolohkojen sirpaleisuus ei ole useinkaan ylivoimainen este.

Maidontuotanto keskittyy entistä harvemmillä tiloilla. Vuodesta 1991 vuoteen 1998 maitoa meijeriin toimittavien tilojen määrä on vähentynyt 40 000 tilasta 26 000 tilaan. Maitotilojen osuus aktiivituloista oli molempina ajankohtina 31 %. Maidonlähettäjien lukumäärä väheni keskimäärin 6 %:lla eli 2000 tilalla vuodessa. Tahti jatkui vuonna 1998, sillä vuoden alun ja lopun välillä 1800 tilaa lopetti maidontuotannon, eli maitotilojen lukumäärä väheni 7 %:lla. Karjakkoon kasvun ja maidon keskituotoksen lisääntymisen ansiosta meijeriin toimitettu maitomäärä on ollut vuosina 1991–1998 ennallaan noin 2,3 mrd. litrassa vuodessa. Karjakoko on vuodesta 1991 lähtien kasvanut keskimäärin puolella lehmällä vuodessa. Vuoden 1998 lopussa 25 400 tilalla oli 381 000 lypsylehmää, joten lypsykarjatilalla oli keskimäärin 15,0 lehmää. Lehmän keskituotos on kasvanut keskimäärin 1,6 % vuodessa (EU:n keskiarvo on 1,75 % vuodessa (EU:n komissio 1999)).

Tilakoon nopeasta kasvusta huolimatta suomalaiset maitotilat ovat pieniä. Vuonna 1995 EU:n maitotiloilla oli keskimäärin 23 lehmää. Suomen kannalta tärkeimmissä kilpailijamaissa Ruotsissa keskikoko oli 27 lehmää, Tanskassa 44 lehmää, Saksassa 26 lehmää, Alankomaissa 46 lehmää ja Ranskassa 29 lehmää.

Maidon markkinajärjestelmä

Yhteinen markkinajärjestelmä on keskeinen väline EU:n yhteisen maatalouspolitiikan (CAP) tavoitteiden saavuttamiseksi. Markkinajärjestelmä koostuu hintajärjestelmästä, rajasuojasta, vientituesta ja ylijäämävarastoinnista. Markkinoiden tarjonnan ja kysynnän epäsuhdetta ja eriaikaisuutta tasaavien interventiojärjestelyiden tehtävänä on sisämarkkinoille hallinnollisesti asetun hintatason ylläpitäminen ja siten mm. tuottajien tulotason turvaaminen. Markkinajärjestelmä koskee 19 maataloustuotetta tai tuoteryhmää, joiden hallinnolliset hinnat komissio ja jäsenmaat vuosittain päättävät.

Maidon markkinajärjestelmään sisältyy tuotantoa rajoittava kiintiöjärjestelmä, jonka mukaan tukea myönnetään vain tilakohtaisesti vahvistetuille tuotantomäärille. Suomessa maitokiintiöiden kauppaa säädelään ns. sekajärjestelmällä, jonka mukaan maitokiintiöitä voidaan ostaa hallinnolta tai toiselta tuottajalta. Vuonna 1998 hallinnollisella kaupalla kiintiöitä siirtyi tuottajille noin 30 milj. litraa hintaan 0,65 mk/l. Tuottajien välisissä kaupoissa vaihtoi omistajaa noin 10 milj. kiintiölitraa alueesta riippuen keskimäärin 1,01–1,43 mk:n litrahinnalla. Lisäksi kiintiöitä siirtyy kokonaisten tilojen kauppojen yhteydessä.

Agenda 2000 -ratkaisun yhteydessä sovittiin, että maitotuotteiden hallinnollisia hintoja alennetaan vuodesta 2005 alkaen kohti maailmanmarkkinahintoja. Hintojen alennusta kompensoidaan suorilla tuilla, jotka siten tulevat osaksi myös maidon hinta- ja markkinajärjestelmää. Viljojen ja naudanlihan osalta markkinajärjestelmän uudistus tehtiin jo vuoden 1992 CAP-reformin yhteydessä. Maidon hallinnollinen hinta tarkoittaa tavoitehintaa, jonka toteutumiseksi voille ja rasvattomalle maitojauheelle on asetettu interventiohinnat. Kansallisilla interventioelimillä on velvollisuus ostaa kaikki tällä hinnalla tarjotut, laatu-

vaatimukset täyttävät erät. Interventiovarastoja puretaan joko sisämarkkinoille tai viedään vientituen avulla yhteisön ulkopuolelle. Keväällä 1999 maidon tavoitehintaa on 1,84 mk/kg, voion interventiohintaa 19,50 mk/kg ja rasvattoman maitojauheen interventiohintaa 12,20 mk/kg.

Maidon kiintiöjärjestelmän tarkoituksena on rajoittaa maidontuotantoa ja siten estää tuottajahinnan aleneminen. Suomen maitokiintiö on 2398 milj. kiloa eli 2,0 % EU:n kiintiöistä. Jos maakiintiö ylittyy, ylimääräisistä litroista on maksettava lisämaksua, joka on 115 % maidon tavoitehinnasta. Kiintiökaudella 1997/98 maakiintiö alittui vain 0,1 %:lla. Kuluva kiintiökauden maidontuotannon ennakoitaan vähenevän hie-man. Vuonna 2005 Suomen maakiintiö kasvaa 1,5 %.

Kova kilpailu maitonestemarkkinoilla alensi maidon tuottajahintaa vuonna 1998. Tuottajahinta jälkatileineen oli 1,98 mk/l (2,01 mk/l vuonna 1997), jonka lisäksi maksettiin tuotantotukea keskimäärin 0,58 mk/l (0,65 mk/l vuonna 1997).

Maidon kulutusnäkymät

EU-jäsenyyttä edeltävään aikaan, syyskuuhun 1994 nähden elintarvikkeiden reaali-hinnat olivat joulukuussa 1998 keskimäärin 12 % alemmat. Vuonna 1998 elintarvikkeet halpenivat keskimäärin puoli prosenttia. Maidon hinta oli joulukuussa 1998 6 % alempi kuin syyskuussa 1994. Yli puolet hinnan alenemisesta tapahtui vuonna 1998. Aleneminen johtui meijereiden välisestä kireästä kilpailusta. Muut maitonesteet ovat halventuneet vähemmän. Joulukuussa 1998 juusto oli keskimäärin 10 % ja voi 15 % halvempaa kuin syyskuussa 1994 (Taulukko 1).

Seuraavassa esitettävät maidon kulutusennusteet Suomessa perustuvat kysyntä-funktioihin, joissa kysytty määrä riippuu kulutusrakenteen kehittymisestä sekä tuotteen hintajoustopista. Kulutus on rajoitettu siten, että se saa poiketa vuosittain vain

Taulukko 1. Maitotuotteiden kuluttajahintojen kehitys syyskuussa 1994, joulukuussa 1997 ja joulukuussa 1998 (deflatointi kuluttajahintaindeksillä)(Tilastokeskus 1999).

Hyödykeryhmä	Muutos	Muutos	Muutos
	9/94->12/97, %	9/94-->12/98, %	12/97-->12/98, %
Maito	-2,9	-6,1	-3,3
Muut maitonesteet	-0,3	-1,5	-1,2
Juustot	-9,0	-9,6	-0,7
Voi	-14,2	-14,9	-0,8

muutamien prosenttien annetusta trendiarvosta (Lehtonen 1998 p. 98–101). Koska mallissa paino on kulutustrendeissä ja koska Agenda 2000 -ratkaisun seurauksena maitotuotteiden hintamuutokset jäävät vähäisiksi, kulutusennusteet heijastavat lähinnä 1990-luvun kulutusrakenteen muutoksia.

Maitonesteiden kulutus henkilöä kohden on 1990-luvulla vähentynyt keskimäärin 1,6 % vuodessa. Hapanmaitotuotteiden kulutuksen kasvun takia maitonesteiden kulutuksen väheneminen tulee kuitenkin olemaan aiempaa hitaampaa (Kuva 1).

1990-luvulla juuston kulutus on lisääntynyt keskimäärin 3 % vuodessa. EU-jäsenyyden seurauksena juuston hinta aleni selvästi, mikä kasvatti kulutusta. Ennusteen mukaan kasvu hidastuu yhteen prosenttiin, mutta kulutusrakenteen muuttuu siten, että erikoisjuustojen osuus kulutuksesta kasvaa emmentalin ja varsinkin edamin kustannuksella. EU-jäsenyydestä seurannut hintojen halpeneminen ei kasvattanut voion kulutusta, joka on alentunut 1990-luvulla kes-

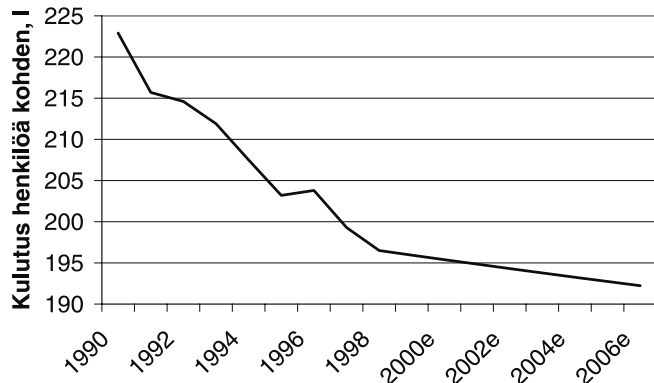
kimäriin 3 % vuodessa. Ennusteen mukaan kehitys jatkuu, joskin hitaampana (Kuva 2).

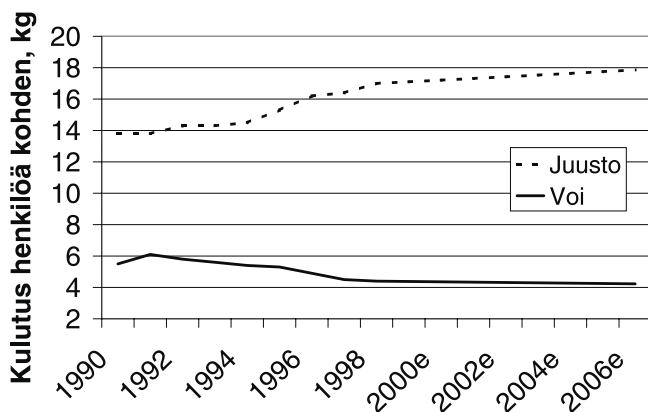
Maitotuotteiden kulutus siirtyy entistä vähärasvaisempiin tuotteisiin. Täysmaidon ja kevytmaidon kulutus vähenee, ja rasvattoman maidon kulutus lisääntyy. Hapanmaitotuotteiden kulutus lisääntyy jonkin verran (Taulukko 2).

Koko EU:n juuston kulutuksen ennustetaan jatkavan kasvua, joskin hitaammin kuin aiemmin. Vuoteen 2001 asti kulutuksen ennustetaan lisääntyvän 1,1 % vuodessa ja sen jälkeen 1,0 % vuodessa. Henkilöä kohden kulutuksen ennustetaan kasvavan 16,5 kilosta vuonna 1997 17,6 kiloon vuonna 2005. Voion kulutus EU:ssa tulee edelleen vähenemään, joskin hitaammin kuin tähän asti. Ennusteen mukaan kulutus vähenee 0,8 % vuodessa vuoteen 2005 asti. Henkilöä kohden kulutuksen ennustetaan alenevan 4,7 kilosta 4,3 kiloon (EU:n komissio 1999).

Kymmenessä EU-jäsenyyttä hakeneessa Keski- ja Itä-Euroopan maassa nestemäis-

Kuva 1. Maitonesteiden (nestemäiset maito- ja hapanmaitotuotteet sekä kerma) kulutus vuosina 1990–2006.





Kuva 2. Juuston ja voin kulutus vuosina 1990–2006.

ten maitotuotteiden kulutuksen arvioidaan kasvavan siitä, mihin se aleni talouden murroksen seurauksena. Nestemäisten maitotuotteiden kulutuksen ennustetaan kasvavan 17 milj. tonnista vuonna 1997 18 milj. tonniin vuonna 2005 eli tasolta 164 kg/henkilö tasolle 172 kg/henkilö. Kaikki meijerituotteet mukaan lukien maidon kokonaiskulutuksen ennakoidaan kasvavan 26,2 milj. tonnista vuonna 1997 30,0 milj. tonniin vuonna 2005. Kun otetaan huomioon ennakoitu tuotanto, vuonna 2005 kymmenen KIE-maata tuottaa 2,2 milj. tonnia maitoa enemmän kuin kuluttaa.

Taulukko 2. Maitonesteiden (l/henkilö) sekä juuston ja voin (kg/henkilö) kulutus vuosina 1997 ja 2006e.

Tuote	1997 ¹	2006e
Täysmaito	21	18
Kevytmaito	94	84
Rasvaton maito	32	36
Piimät	17	18
Jogurtit	17	19
Viili	6,4	6,4
Kerma	6,5	6,5
Muut maitonesteet	6,0	5,1
Maitonesteet yhteensä	199	192
Juusto	16	18
Voi	4,5	4,2

¹ Lähde: TIKE 1998

Vientipotentiaali kasvaa etenkin Puolassa ja Liettuassa (EU:n komissio 1999).

Maidontuotannon näkymät

Vuoden 1997 maataloustulo oli maitotiloilla keskimäärin 4 % pienempi kuin ennen EU-jäsenyyttä. Suhteessa sikatiloihin maitotilojen tulot olivat kehittyneet heikommiksi, mutta suhteessa viljatiloihin maitotilojen tulot olivat kehittyneet paremmin. Katovuosi 1998 yhdistettynä EU:n sianlihamarkkinoiden kriisiin muutti tulokehityksen täysin. Vuonna 1998 maitotilojen tulojen on arvioitu pienentyneen 9 %, mutta sikatilojen tulojen 35 % ja viljatilojen tulojen peräti 42 %. On huomattava, että kaikissa tuotantosuunnissa keskimääräinen tilakoko on kasvanut, joten eläintä ja hehtaaria kohden tulot ovat EU-aikana pienentyneet selvästi enemmän (Taulukko 3).

Tulojen pienenemisen ohella maatilojen kannattavuus on heikentynyt. Arvion mukaan vuonna 1998 maitotilat saavuttivat vain 63 % omalle työlle asetetusta palkka-vaatimuksesta ja oman pääoman tuottovaatimuksesta. Suhdetta kuvaava kannattavuuskerroin on pienentynyt 18 % vuosien 1992–94 keskiarvosta, 0,77:sta.

Taulukko 3. Maataloustulo vuosina 1992–1998, indeksi 1992–1994:100 (MTTL 1999).

Tuotanto-suunta	1992-94 keskiarvo	1995	1996	1997	1998 ennuste
Maitotilat	100	96	98	96	88
Sikatilat	100	94	103	103	67
Viljatilat	100	72	99	81	47

Taulukko 4. Eräiden maitotaloustuotteiden ulkomaankauppa vuosina 1997 ja 1998, milj. kg (ETT 1999, Tullihallitus 1999).

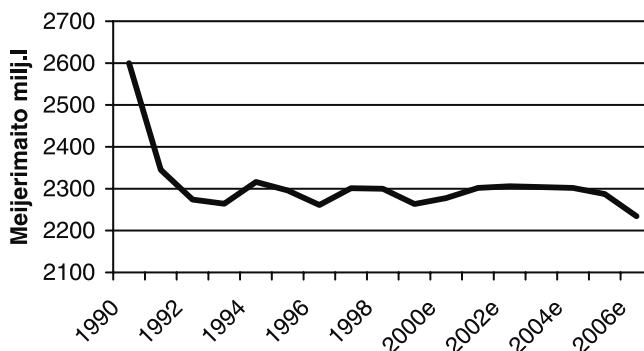
	Juusto	Vienti Voi	Maitojauhe	Tuonti Juusto
1997	31,6	26,8	19,8	17,6
1998	28,5	26,3	20,1	16,7 ¹

¹Tammi-marraskuu

Maidon markkinajärjestelmän, maidontuotannon kannattavuuskehityksen ja kotimaisen kulutuksen lisäksi maidontuotannon edellytykset riippuvat ulkomaankaupan kehityksestä. Vuonna 1998 maitotuotteiden vienti väheni. Juuston vientiä rajoittavat GATT-sopimuksen vientirajoitteet, minkä vuoksi juuston vientituki on ollut rajoittavan alhainen EU:n ulkopuoliselle viennille. Juuston viennissä näkyy myös syksyinen Venäjän kaupan tyrehtyminen (Taulukko 4). MTTL:ssa kehitetyllä sektorimallilla arvioitiin Berliinissä maaliskuussa 1999 saavutetun Agenda 2000 –sopimuk-

sen vaikutuksia maidontuotantoon Suomessa. Vuosina 2000 ja 2001 maidontuotannon arvioidaan lisääntyvän maakiintiön ylärajalle saakka. Lisäys selittyy osittain rehun hinnan alenemisella. Maidontuotannossa siirrytään väkirehuvaltaisempaan ruokintaan. Vuosina 2005 ja 2006 interventiohinnan leikkaus heikentää maidontuotannon kannattavuutta. Tuotannon vähenemisen seurauksena Suomen saamaa 1,5 %:n lisäkiintiötä ei voida hyödyntää (Kuva 3).

Syksyllä 1998 EU:n maidontuotannon arvioitiin vähenevän 120,8 milj. tonnista

**Kuva 3.** Maidontuotanto vuosina 1990–2006.

kotimaisesta raaka-aineesta tehtyihin maitotaloustuotteisiin. Maidon markkinajärjestelmä kiintiöineen antaa maidontuottajalle kuitenkin melko ennustettavissa olevan toimintaympäristön vuoteen 2006 asti. Edellytyksenä on, että kansallinen tukijärjestelmä jatkuu nykyisessä muodossaan. Mitä tapahtuu vuoden 2006 jälkeen, riippuu ennen kaikkea tuki- ja kiintiöjärjestelmän jatkosta. Jos kiintiöjärjestelmästä luovutaan, kilpailu EU:n sisämarkkinoilla kiristyy ja Suomen maitosektorilta vaaditaan sopeutumista kilpailemaan alhaisemman tuotantokustannuksen tuottajien kanssa.

Suomalainen maitosektori on riippuvainen kuluttajien valinnoista. Tuoretuotteiden osalta Suomen syrjäinen sijainti antaa osittaisen rajasuojan, mutta säilytystä kestävien tuotteiden osalta tätä suojaa ei ole. Kotimaisella tuotannolla on puolellaan muitakin etuja, kuten kansalliset makutot-

tumukset ja vahvat kansalliset tuotemerkit yhdistettynä markkinoiden pienuuteen. Suomalaisen tuotannon paras turva on kuluttajien kotimaisuuspreferenssi, jota on pidettävä yllä ympäristön ja eläinten hyvinvoinnin huomioon ottavalla tuotantotavalla, koko tuotantoketjun kattavilla laatuketjuilla, laadukkailla tuotteilla ja kehittyvällä tuotevalikoimalla. Vaikka maitomarkkinat eivät raakamaidolla mitaten kasvakaan, tuotannon arvoa on mahdollista kasvattaa. Maitoalan tavoitteena on tuotekehittelyn ja markkinoinnin avulla luoda edellytykset sille, että kuluttajat käyttäisivät aikaisempaa suuremman osan tuloistaan maitotuotteisiin. Maidon uusilla sovelluksilla luodaan maitoketjuun lisäarvoa, turvataan jalostajille kotimainen raaka-aine ja hankitaan menestyksen edellytyksiä myös vientimarkkinoilla.

Kirjallisuus

EU:n komissio 1999. Prospects for agricultural markets 1998-2005. The European Commission, DG VI. Available: <http://europa.eu.int/comm/dg06/publi/caprep/>

ETT 1999. Elintarviketieto Oy:n tilastot. Julkaisematon tuloste.

Lehtonen, H. 1998. Suomen maatalouden alueellinen sektorimalli. Versio 1.0. MTTL:n tutkimuksia 224. Helsinki: Maatalouden taloudellinen tutkimuslaitos. 155 p.

MTTL 1999. Suomen maatalous ja maaseutuelinkeinot 1998. MTTL:n julkaisuja 91. Helsinki: Maatalouden taloudellinen tutkimuslaitos. 94 p.

TIKE 1998. Ravintotaseet 1996 ja 1997 (ennakko). Helsinki: Maa- ja metsätalousministeriön tietopalvelukeskus. 25 p.

Tilastokeskus 1999. Kuluttajahintaindeksi. Julkaisematon tuloste.

Tullihallitus 1999. Ulkomaankauppatilasto. Ennakotieto. Julkaisematon tuloste.

Maidon uudet mahdollisuudet

Hannu Korhonen

Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen

Kuluttajien kiinnostus ruoan terveysvaikutuksia kohtaan on kasvanut voimakkaasti viime vuosina. Tämä on näkynyt selvästi funktionaalisten elintarvikkeiden kehittämisen myötä. Terveyttä edistäviä aineosia etsitään tiiviisti lukuisista elintarvikkeiden raaka-aineista. Maito on tässä suhteessa kiinnostava tutkimuskohde, sisältäähän se tuhansia biologisesti aktiivisia yhdisteitä. Viime vuosina tehdyt tutkimukset ovatkin osoittaneet, että maito on erinomainen lähde kehitettäessä terveysvaikutteisia elintarvikkeita. Maidon sisältämiä bioaktiivisia aineosia, kuten proteiineja, peptidejä, rasvahappoja ja sokerijohdannaisia sekä probioottisia maitohappobakteereja on jo hyö-

dynnetty menestyksekkäästi terveyttä vahvistavien elintarvikkeiden tuotekehityksessä. On todennäköistä, että tämä kehitys tulee jatkumaan tulevaisuudessa ja antaa maidolle lisäarvoa.

Tässä kirjallisuuskatsauksessa käsitellään maidon uusia mahdollisuuksia terveyden edistämiseen nykyisen tutkimustiedon valossa. MAIUS-maidontutkimusohjelmassa saavutetut tulokset lisäävät merkittävästi tätä tietämystä ja antavat tarvittavaa tieteellistä pohjaa maidon laatu- ja jalostusominaisuuksien ja ravintoarvon parantamiseen edelleen sekä positiivisten terveysvaikutusten hyödyntämiseen.

Avainsanat: bioaktiiviset yhdisteet, CLA, funktionaaliset elintarvikkeet, immuunimaito, juustobera, maito, peptidit, probiootit, ternimaito

Johdanto

Maito ja maitovalmisteet kuuluvat perinteisesti suomalaiseen ruokavalioon. Maito on monipuolinen ravintoaine, joka sisältää hyvälaatuisia valkuaisia, runsaasti kalsiumia ja B-vitamiineja sekä monia hivenaineita (Jokela et al. 1998). Maitovalmisteiden kuluttajina suomalaiset ovat edelleen kärkisi-joilla maailmantilastossa, vaikka kulutus-trendien myötä eri maitotuotteiden kulu-tusluvuissa on tapahtunut merkittäviä muutoksia viimeisen kahden vuosikymme-nen aikana. Tämän päivän kuluttajaa kiin-nostaa ruoan turvallisuus ja terveellisyys ja yhä enemmän myös elintarviketuotannon eettiset ja ekologiset arvot. Nämä laatuteki-jät liitetään myös maidontuotantoon ja -jalostukseen. Lehmien ruokinta perustuu Suomessa edelleen kotoiseen nurmirehuun, mikä antaa edellytykset tuottaa hyvälaa-tuista maitoa. Maitohygienia on kohentu-nut maitotiloilla merkittävästi tilakohtai-sesti ohjatun neuvonnan ansiosta. Maidon hygieenistä laatua on 1960-luvulta lähtien kohentanut myös koneellisen jäähdytyksen tulo tilatasolle. Suomalaisen maidon laatu onkin nykyään huippuluokkaa maailman-laajuisesti arvioituna ja tilakohtaiset laatu-sopimukset takaavat raaka-aineen korkean laadun. Laatuvarmuutta pyritään yhä lisää-mään koko maitoketjun kattavalla laatu-jär-jestelmällä, jota sovelletaan parhaillaan tila-tasolla.

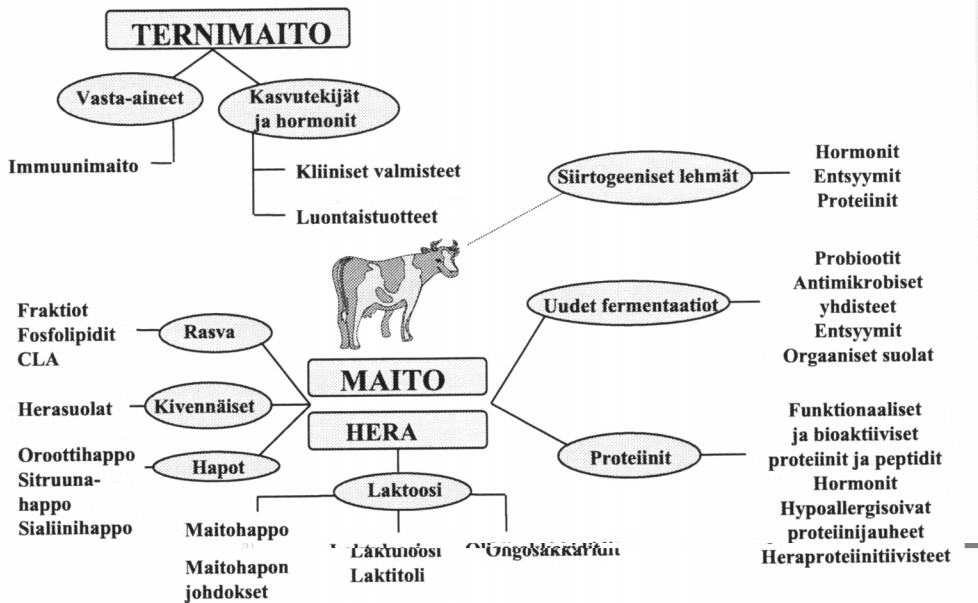
Tieteellinen tutkimus on viime vuosina avannut hyvin mielenkiintoisia näköaloja maidon hyväksikäytölle elintarviketeolli-suuden lisäksi lääketieteellisuuden ja biotek-niikan yrityksissä. Erityisen kiinnostuksen kohteina ovat viime vuosina olleet probi-oottiset maitohappobakteerit ja maidosta eristetyt bioaktiiviset yhdisteet. Niitä ovat mm. vasta-aineet ja muut antimikrobiset proteiinit, niiden peptidijakeet, eräät rasva-hapot ja maitosokerin johdannaiset (Kuva 1). Uusien teknologisten prosessien avulla näitä aineosia pystytään rikastamaan ja eris-tämään puhtaana sekä lisäämään aktiivises-sa muodossa eri elintarvikkeisiin. Maidon

terveyttä edistäviä ominaisuuksia tutkitaan nyt maailmanlaajuisesti (IDF 1998). Mai-toa voidaan pitää hyvin monipuolisena raa-ka-aineena kehitettäessä funktionaalisia eli terveystuotteita elintarvikkeita. Taulu-kossa 1 on lueteltu maidosta eristettäviä bioaktiivisia yhdisteitä ja niiden mahdollisia käyttökohteita joko elintarvikkeina tai lää-kevalmisteina. Maidon uudet sovellukset -tutkimusohjelman eräänä tavoitteena on ollut edistää tieteellistä tutkimusta tällä alueella ja soveltaa saatua uutta tietoa mai-don aineosien yhä parempaan hyväksikäyt-töön ihmisen ravitsemuksessa ja terveydes-sä.

Tässä katsauksessa kuvataan eräitä mai-toa koskevia tutkimusalueita, joissa on vii-me vuosina saavutettu merkittäviä tieteelli-siä tuloksia ja joihin liittyy huomattavaa po-tentiaalia tuotteistamiseen.

Ternimaidossa on bioaktiivista voimaa

Maitoon verrattuna ternimaito sisältää run-saasti monia bioaktiivisia yhdisteitä, ennen kaikkea vasta-aineita ja kasvutekijöitä (Pakkanen & Aalto 1997). Nämä tekijät ovat tunnetusti elintärkeitä vastasyntyneel-le vasikalle ja siksi niiden riittävää saantia on pyritty varmistamaan kehittämällä tern-imaidosta kaupallisia vasta-ainetiivisteitä (Butler 1994, Nousiainen et al. 1994). Tulevaisuudessa ternimaidon bioaktiivisia yhdisteitä voitaneen hyödyntää myös ihmisen vastustuskyvyn ja suorituskyvyn lisää-miseen. Ternimaito onkin nyt tiiviin tutki-muksen kohteena Suomen lisäksi mm. Australiassa, Uudessa-Seelannissa ja Yhdysvalloissa. Ternimaitoon voidaan tuottaa spesifisiä vasta-aineita ihmiselle tai kotieläimille haitallisia suolistobakteereja vastaan immunisoimalla lehmiä ennen poi-kimista kyseisistä bakteereista tehdyllä ro-kotteella. Näin valmistettuja immuunimai-tovalmisteita on jo tullut markkinoille eräissä maissa, mm. Australiassa ja Yhdys-



Kuva 1. Maidon aineosien uusia käyttömuotoja

valloissa (Davidson 1996, Hettinga 1998). Suomessa on käynnissä tutkimuksia, joissa pyritään kehittämään immuunimaitoa mm. mahakatarrin (Korhonen et al. 1995, Oona et al. 1997) ja rotavirusripulin (Ylitalo et al. 1998) hoitoon sekä hammaskarieksen (Loimaranta et al. 1997) ehkäisyyn. Tähänastiset laboratoriokokeet ja alustavat potilastutkimukset ovat olleet lupaavia. Muualla tehdyt lukuisat kliiniset tutkimukset ihmisillä ovat osoittaneet, että immuunimaito auttaa mm. kolibakteerin aiheuttaman ripulin ja lasten rotavirusripulin ehkäisyssä ja hoidossa sekä aids-potilaiden sekundääritartuntojen hoidossa (Hammarström et al. 1994, Davidson 1996, Korhonen 1998). Eläinkokeissa saadut tulokset viittaavat siihen, että ternimaidossa esiintyvät kasvutekijät edistävät haavojen paranemista ja toipumista fyysisestä rasituksesta, mutta näiden ominaisuuksien varmistamiseksi tarvitaan lisätutkimuksia (Regester et al. 1996, Pakkanen & Aalto 1997, Mero et al. 1997).

Juustohera on monipuolinen raaka-aine

Juustonvalmistuksessa syntyvä hera on monissa maissa, mm. Suomessa, yhä sivutuote, jonka mahdollisuuksia ei ole hyödynnetty täysin, varsinkaan ihmisen ravitsemuksessa. Heraa tuotetaan maailmassa vuosittain noin 130 miljardia litraa, josta alle 50 % käytetään ihmisravinnoksi tai eläinten rehuksi. Suomessa tuotetaan juustoheraa noin 900 miljoonaa litraa vuodessa. Tästä määrästä lähes puolet käytetään eläinrehujen valmistukseen ja toinen puoli elintarviketeollisuudessa, lähinnä leipomoteollisuuden raaka-aineena (Tupasela & Korhonen 1998). Herasta on nykypäiviin asti eristetty pääasiassa laktoosia ja proteiineja, joista on tehty erilaisia tiivisteitä. Niiden käyttö elintarvikkeissa on kuitenkin rajoitettua sekä fysiologisista (laktoosi-intoleranssi, allergiat) että teknologisista (rajalliset fysiko-kemialliset ominaisuudet) syistä johtuen (Sienkiewicz & Riedel 1990, de Wit 1998).

Taulukko 1. Maidon aineosien käyttömahdollisuuksia terveysvaikutteisissa elintarvikkeissa.

Aineosa	Vaikutus/käyttötapa	Kohderyhmä
Kalsium	Osteoporoosin ehkäisy	Kasvuikäiset, vanhukset
Foolihappo (rikastettu)	Hermostovaurioiden ehkäisy	Odottavat äidit
Kasvutekijät	Solujen kasvun säätely	Kilpaurheilijat Leikkauspotilaat
Laktuloosi, laktitoli (oligosakkaridit)	Ummetuksen ehkäisy, bifidus-bakteerien kasvun stimulointi	Imeväisikäiset lapset, vanhukset
Laktoferrini/lakto- peroksidaasisysteemi	Mikrobi-infektioiden ehkäisy	Imeväisikäiset lapset/ suolistoinfektiopotilaat
Peptidit, aminohapot	Immuunisysteemin, keskus- hermoston tai verenpaineen säätely	Allergia-, immuunivaje- ja verenpainepotilaat, huippu-urheilijat
Vasta-aineet	Mikrobi-infektioiden esto ja hoito	Imeväisikäiset lapset, suolistoinfektiopotilaat
Probioottiset maito- happobakteerit/hapan- maitovalmisteet	Mikrobi-infektioiden esto ja hoito, suoliston toiminnan tasapainottaminen	Reumapotilaat, suolisto- infektiopotilaat, kroonikot
Konjugoitu linolihappo CLA	Kolesterolitason alentaminen, rasvasolujen metabolian säätely, immuunisysteemin modulointi, antikarsinogeeninen, antimikrobinen, antioksidatiivinen	Sydän- ja verisuonitauti- potilaat, immuunivaje- potilaat, laihduttajat

Heran aineosia koskeva tieteellinen tutkimus ja teollisten eristämismenetelmien nopea kehitys on viimeisen kymmenen vuoden aikana muuttanut käsitystä heran arvosta ja saattaa tehdä siitä tulevaisuudessa juustoa arvokkaamman tuotteen. Heralla on tunnetusti korkea ravintoarvo, vaikka sen kuiva-ainepitoisuus on vain puolet (6–7 painoprosenttia) maidon kuiva-aineen kokonaisuudesta (n. 12,5 %). Tästä suurin osa on laktoosia, mutta hera sisältää myös proteiineja, lipidejä, vitamiineja, orgaanisia happeja sekä kivennäis- ja hivenaineita.

Bioaktiivisia proteiineja voidaan uusilla tekniikoilla rikastaa tai eristää puhtaana ja soveltaa funktionaalisten elintarvikkeiden ja erityisravintovalmisteiden tuotekehitykseen. Kalvosuodatuksella ja kromatografisilla menetelmillä on mahdollista eristää juustoheraasta teollisessa mittakaavassa proteiinien pääkomponentit β -laktoglobuliini, α -laktalbumiini, immunoglobuliinit, glykomakropeptidi, laktoferrini, laktoperoksidaasi ja seerumialbumiini (Tupasela & Korhonen 1998). Erityisravintovalmisteiden, esimerkiksi lastenruokien, valmistuk-

Taulukko 2. Maidon proteiinien biologisia ominaisuuksia.

Proteiini	Pitoisuus g/l	Ominaisuus
Kaseiinit (α , β , κ)	28	Kivennäisaineiden ja hivenaineiden kuljetus bioaktiivisten peptidien prekursori
β -laktoglobuliini	3,3	Retinolin kuljetus, rasvahappojen sitominen, mahdollinen antioksidantti
α -laktalbumiini	1,2	Laktoosin synteesi maitorauhasessa, kalsiumin kuljetus, immunomodulointi, antikarsinogeeninen
Immunoglobuliinit (IgG, IgM, IgA)	0,7	Passiivinen immunitteetti
Glykomakropeptidi	1,2	Ruoansulatuksen säätely, bifidobakteerien stimulointi, antiviraalinen, verihiutaleiden aggregaation estäminen
Laktoferrini	0,1	Antimikrobinen, antioksidatiivinen, antikarsinogeeninen, immunomodulointi, raudan kuljetus
Laktoperoksidaasi	0,03	Antimikrobinen
Lysotsyymi	0,0004	Antimikrobinen, synergistinen vaikutus immunoglobuliinien ja laktoferrinin kanssa

nessä käytetään yleisesti yhdistettyjä tekniikoita, kuten hydrolysointia, lämpökäsittelyä ja fraktioivaa kalvosuodatusta heraproteiinien allergisoivien ominaisuuksien vähentämiseksi ja sulavuuden parantamiseksi.

Tietyillä heraproteiineilla ja entsyymeillä on jo kauan tiedetty olevan ainutlaatuisia biologisia ominaisuuksia. Niitä on kuvattu taulukossa 2 (Björck & Hopkin 1991, Fox & Flynn 1992, de Wit & van Hooydonk 1996, Smithers et al. 1996, Barth & Behnke 1997, McIntosh et al. 1998, Korhonen

1998, Korhonen et al. 1998a, Tomé 1998). Viime vuosina on pyritty kehittämään kaupallisia sovelluksia varsinkin laktoperoksidaasille, laktoferrinille ja immunoglobuliineille, joilla on antimikrobista tehoa lukuisia enteropatogeneja vastaan. Myös glykomakropeptidille, jota lohkeaa κ -kaseiinista maidon juoksetuksen yhteydessä, etsitään käyttöä mm. ruoansulatuskanavan mikroflooran tasapainotuksessa. Uusimmat tutkimustulokset viittaavat siihen, että erällä rikkipitoisilla heraproteiineilla on

immuunivastetta sääteleviä ja syöpäsolujen kasvua hidastavia ominaisuuksia (Parodi 1998). Lisätutkimuksia tarvitaan näiden mielenkiintoisten tulosten vahvistamiseksi.

Hera sisältää luonnostaan runsaasti erilaisia pienimolekyylisiä yhdisteitä, kuten orgaanisia happoja ja niiden suoloja, hormoneja, kasvutekijöitä ja biologisia välittäjäaineita (Pakkanen & Aalto 1997). Niiden mahdollisista fysiologisista vaikutuksista ei ole tehty laajoja tieteellisiä tutkimuksia, mutta alustavat eläinkokeet viittaavat siihen, että esimerkiksi maidon sisältämä melatoniini-hormoni saattaa olla aktiivinen myös elimistössä (Eriksson et al. 1998). Eri tavoin prosessoitua heraa käytetään lisäantivässä määrin ns. dieetti- ja terveysjuomien valmistuksessa. Euroopassa on markkinoilla n. 200 erilaista herapohjaista tuotetta ja yli 40 juomaa, joista monet on suunnattu tietyille kuluttajaryhmille (Riedel 1995, O'Carroll 1997).

Heraproteiineilla on myös spesifisiä toiminnallisia ominaisuuksia, joita on perinteisesti käytetty hyväksi monien elintarvikkeiden valmistuksessa sekä rakenteen ja aistinvараisten ominaisuuksien muokkaamisessa (Korhonen et al. 1998a, de Wit 1998). Heraproteiinijauheita ja demineralisoituja herajauheita on jo kauan käytetty juustojen, hapanmaitovalmisteiden, kastikkeiden, makeisten, leipomo- ja konditoriatuotteiden, lihavalmisteiden ja lastenruokien valmistuksessa (Mulvihill 1992, Riedel 1995). Myös biokemiallinen ja farmaseuttinen teollisuus on käyttänyt herajauheita jo kauan apuaineina, mutta tulevaisuudessa heran yksittäisillä komponenteilla saattaa olla spesifistä käyttöä mm. lääkeaineiden tehoa lisäävinä yhdisteinä. Yksittäisillä heraproteiineilla on paremmat toiminnalliset ominaisuudet kuin heraproteiinitivisteillä. Haluttuja ominaisuuksia ovat mm. hyvä liukoisuus, emulsion muodostus, vaahdotuvuus ja geelin muodostus. Heraproteiinien toiminnallisia ominaisuuksia voidaan muokata edelleen kemiallisilla käsittelyillä tai pilkkomalla proteiineja proteolyttisillä entsyymeillä (Panyam & Kilara 1996, Korhonen et al. 1998b). Uusimpia tutkimus-

kohteita ovat aktiiviset syötävät pakkauskalvot, joihin heraproteiinit soveltuvat erinomaisesti monimuotoisuutensa perusteella (Krochta et al. 1994, Gennadios et al. 1997).

Bioaktiiviset peptidit – maitoproteiinin lisäarvotekijöitä tulevaisuudessa

Kaseiineista ja heraproteiineista lohkeaa ruoansulatusentsyymien (pepsiini-trypsiini) vaikutuksesta peptidejä, joilla on havaittu olevan lukuisia eri vaikutuksia sekä koe-eläinten että ihmisen elimistössä. Bioaktiivisilla peptideillä on mm. keskushermostoa rauhoittavaa, mikrobeja tuhoavaa, hapettumista estävää, verenpainetta alentavaa, immuunijärjestelmää säätelevää ja kalsiumin imeytymistä edistävää vaikutusta (Meisel & Schlimme 1996, Korhonen et al. 1998b, Meisel 1998, Schanbacher et al. 1998, Xu 1998). Bioaktiivisten peptidien muodostuminen maitoproteiineista on todettu sekä koe-eläimillä että ihmisillä tehdyissä tutkimuksissa, mutta peptidien aikaansaamien fysiologisten vaikutusten osoittaminen *in vivo* on ollut vaikeaa. Tutkimustietoa tarvitaan lisää myös peptidien teknologisista ominaisuuksista ja tuotantoteknologiaa tulee kehittää teolliseen mittakaavaan.

Bioaktiivisia peptidejä on todettu muodostuvan myös kypsytetyissä juustoissa ja hapanmaitovalmisteissa, kun maitohappobakteerit pilkkovat proteiineja peptideiksi ja aminohapoiksi (Meisel et al. 1997). Hapanmaitovalmisteeseen, johon fermentoinnin aikana muodostuu verenpainetta alentavia peptidejä, on havaittu alentavan verenpainetta sekä koe-eläimillä että ihmisillä tehdyissä kokeissa (Yamamoto et al. 1994, Nakamura et al. 1995). Tätä hapanmaitovalmistetta myydään Japanissa funktionaalise-
na elintarvikkeena (Takano 1998). Maito-

proteiineista muodostuvien bioaktiivisten peptidien ominaisuuksia säätelevät käteytetyt proteolyttiset entsyymit, hapatekanat ja fermentaatio-olosuhteet (Pihlanto-Leppälä et al. 1998). On todettu, että probioottinen maitohappobakteeri *Lactobacillus* GG tuottaa maitoon hapattamisen aikana useita erilaisia bioaktiivisia peptidejä, joilla on todettu olevan mm. keskushermostoa säätelevää, verenpainetta alentavaa ja immuunijärjestelmää säätelevää vaikutusta (Rokka et al. 1997). Näin syntyvien immunopeptidien on havaittu hidastavan allergiareaktioita säätelevien lymfosyyttien ja sytokiinien toimintaa (Sütas et al. 1996). Probiooteilla fermentoidut maitovalmisteet saattavat siten soveltua paremmin maitoallergiaa sairastaville ja yleisesti vähentää ruoka-allergian oireita altistuneissa henkilöissä. On todennäköistä, että maidon proteiineista peräisin olevia bioaktiivisia peptidejä tullaan jo lähitulevaisuudessa hyödyntämään laajemmin erityisravintovalmisteissa, terveysvaikutteisissa elintarvikkeissa ja farmaseuttisissa valmisteissa. Peptidejä, joilla on tarkkaan määritelty farmakologinen vaikutus, voidaan mahdollisesti käyttää lääkeaineina, esimerkiksi verenpainetautiin, immuunipuutostauteihin, allergiaoireiden vähentämiseen, hammas- ja luusairauksiin sekä antibioottien korvikkeena tartuntatautien ehkäisyyn ja hoitoon.

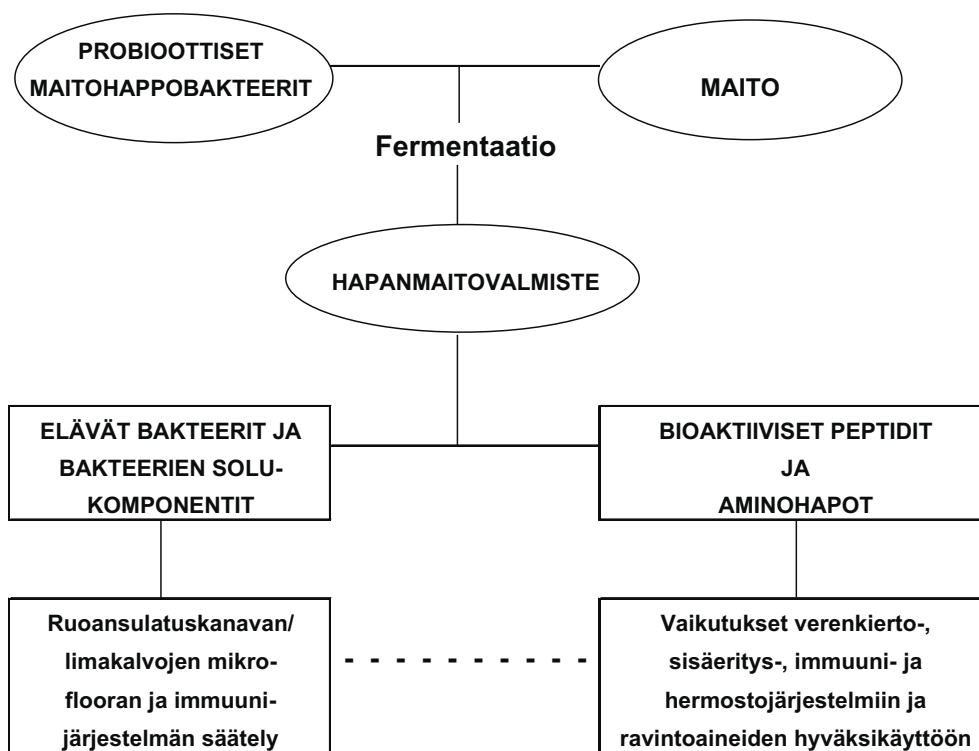
Probioottiset maitohappobakteerit vahvistavat maidon ravintoarvoa ja terveellisyyttä

Erityisen vilkkaan tutkimuksen ja tuotekehityksen kohteena ovat tällä hetkellä maailmanlaajuisesti ns. probioottiset eli suoliston terveyttä edistävät maitohappobakteerit. Niiden tutkimuksessa on saavutettu 1990-

luvulla merkittäviä tieteellisiä läpimurtoja, joita on jo hyödynnetty kaupallisesti. Eräitä maitohappobakteerikantoja sisältäviä valmisteita voidaan pitää ehkä parhaiten tutkittuina funktionaalisina elintarvikkeina, sillä niiden terveysvaikutuksista on tehty lukuisia luotettavia tutkimuksia ihmisillä ja koe-eläimillä. Probioottiseksi väitettyjä valmisteita on viime vuosina tullut runsaasti markkinoille eri maissa, mutta kaikkien tehosta ei kuitenkaan ole vielä riittävästi tutkimuksia. Maitohappobakteerien probioottisia ominaisuuksia koskevaa tietoutta on koottu lukuisiin viime vuosina julkaistuihin kirjoihin ja kirjallisuuskatsauksiin (Korhonen et al. 1994, Saxelin 1997, Charteris et al. 1998, Daly & Davis 1998, Holzapfel et al. 1998, Ouwehand & Salminen 1998, Palva 1998, Salminen et al. 1998a, b, Salminen & von Wright 1998).

Nykyisen käsityksen mukaan probioottisuus on kantakohtaista. Tästä syystä ihmisille tarkoitetuille probioottisille kannoille on pyritty luomaan tiettyjä valintakriteerejä (Charteris et al. 1998, Collins et al. 1998). Niitä ovat mm. seuraavat: kannan tulisi olla peräisin ihmisestä, kestää elävänä ruoansulatuskanavan läpi, kyetä kiinnittymään suoliston seinämään ja mahdollisesti lisääntyä suolistossa, estää patogeenisten mikrobien kasvua suolistossa, olla turvallinen ja säilyä elävänä elintarvikkeissa. Lisäksi probiootilla tulee olla yksi tai useampi kliinisesti ihmisellä osoitettu hyödyllinen terveysvaikutus. Hapanmaitovalmisteeseen lisätyn probiootin tehoon ei näytä kovin paljon vaikuttavan se, onko kanta elävä tai inaktivoitu (Ouwehand & Salminen 1998). Probioottikantoja on löydetty toistaiseksi pääasiassa maitohappobakteerilajien joukosta ja eniten laktobasillien suvusta. Myös bifidobakteerien, propionihappobakteerien ja hiivojen joukosta on tunnistettu probioottisia kantoja (Holzapfel et al. 1998).

Probioottisten bakteerien käyttö eri elintarvikkeissa on lisääntynyt voimakkaasti viime vuosina. Probiootteja lisätään mm. pastöroituun maitoon, hapattettuihin maitovalmisteisiin, erityisesti jogurtteihin, juustoihin, jäätelöön, hera- ja hedelmäjuo-



Kuva 2. Probioottisten hapanmaitoavalmisteiden mahdollisia vaikutuksia elimistössä.

miin, marjajuomiin ja hapatettuihin viljavalmisteisiin (Daly & Davis 1998). Probiootteja on lisätty vaihtelevalla menestyksellä myös hapankaaliin ja fermentoituihin lihavalmisteisiin. Maitohappobakteerien käyttöä tutkitaan lisäksi mahdollisina rokotteiden kantaja-aineina ja kotieläinten rehun säilönnässä. Elintarvikesovelluksien ongelmiksi on todettu, että monet probiootit eivät säily elävinä valmistusprosesseissa tai säilytyksen aikana tai se, että probiootikanta aiheuttaa virhekäymisiä ja siten laatuvirheitä (Knorr 1998). Uusimmat tutkimustulokset osoittavat, että eräät probioottiset kannat, mm. laktobasillit ja bifidobakteerit, saadaan säilymään elävinä kypsytetyissä juustoissa (Stanton et al. 1998). Tutkimus- ja kehitystyötä tarvitaan edelleen probioottien säilyvyyden parantamiseksi elintarvikeprosesseissa ja erilaisissa elintarvikkeissa.

Probioottien vaikutuksista ruoansula-

tuskanavassa on viime aikoina saatu runsaasti uutta tietoa. Erityisesti on tutkittu probiootikantojen vaikutusta ihmisen immuunijärjestelmään, sillä se saattaa selittää mm. eräiden probioottien kykyä vahvistaa luontaista vastustuskykyä haitallisia mikrobeja vastaan, kykyä vähentää allergiaoireita ja kykyä estää syöpäsolujen kasvua (Isolauri 1995, Solis-Pereyra & Lemonnier 1996, Gill 1998). Immuunivasteen selvää vahvistumista onkin todettu muutamien probioottien, kuten *Lactobacillus rhamnosus* GG-, *L. reuteri*- tai *L. casei*- kannan nauttimisen jälkeen. Muita vaikutusmekanismeja, joista jo aiemmin on saatu todisteita, ovat haitallisten mikrobien syrjäyttäminen ruoansulatuskanavassa (kilpaileva kolonisaatio), antimikrobisten yhdisteiden tuotto, paksusuolen mikrobiperäisen entsyymitoiminnan säätely ja ravinnon proteiinien pilkkominen siten, että muodostuu erilaisia bioaktiivisia peptidejä ja aminohappoja (Charteris et al.

1998). Nämä ominaisuudet näyttävät vaihtelevan suuresti eri kannoilla. Probioottisten bakteerien teho näyttää kuitenkin vahvistuvan, kun niitä käytetään yhdessä maidon kanssa. Mahdollisia synergistisiä, hyödyllisiä vaikutusmekanismeja on kuvattu kuvassa 2. Probioottien eri toimintamekanismien todentamiseksi tarvitaan lisää tieteellistä tutkimusta.

Probioottien tehoa elimistössä voidaan vahvistaa ns. probioottien avulla. Prebiootilla tarkoitetaan sulamatonta hiilihydraattia, joka spesifisesti stimuloi hyödyllisten bakteerien kasvua paksusuolella (Gibson & Roberfroid 1995). Prebiootilla on usein myös sellaisenaan elimistön toimintoja edistäviä vaikutuksia, kuten veren kolesterolitason alentaminen tai sokeritasapainon ylläpitäminen, mahdollisesti myös syöpäsairauksien estäminen. Prebiooteilla näyttää olevan spesifisiä kasvua edistäviä vaikutuksia tiettyihin bakteerilajeihin. Esimerkiksi sikurista eristetty inuliini, kauran ja rukiin kuidut sekä maitosokerin johdannaiset laktitoli ja laktuloosi ovat bifidogeenisiä eli stimuloivat bifidobakteerien kasvua (Roberfroid 1996, Kontula 1999). Tutkimusta onkin suunnattu viime aikoina probioottien ja probioottien yhteisvaikutusten selvittämiseksi tiettyjen kroonisten sairauksien hoidossa. Sekä probiootteja että prebiootteja sisältäviä elintarvikkeita on tullut markkinoille useissa maissa (Playne & Crittenden 1996).

Probiooteilla on väitetty olevan lukuisa joukko hyödyllisiä vaikutuksia ihmisen terveyteen. Nykyisen tieteellisen tiedon perusteella voidaan probioottien tutkituista terveysvaikutuksista todeta seuraavaa (Salminen et al. 1998a, b):

- useat probiootit parantavat laktoosin sulaavuutta ja helpottavat siten laktoosi-intoleranssin oireita
- useat probiootit vahvistavat (tai moduloivat) immuunijärjestelmää
- eräät probiootit auttavat ripulisairauksien hoidossa ja ehkäisyssä, erityisesti rotavirusripulin kesto lyhenee pikkulapsilla
- useat probiootit vähentävät suolistomik-

robien haitallisten entsyymien tuottoa ja mutageenisuutta, mutta eläinkokeissa todettua syöpää ehkäisevää vaikutusta ei ole pystytty vahvistamaan ihmisillä

- eräiden probioottien on havaittu alentavan veren kolesterolitasausta, mutta riittävä näyttöä ei toistaiseksi ole saatu.

Uudet tutkimustulokset lisäävät kalsiumin, laktoosin ja maitorasvan arvostusta

Äskettäisen suomalaisen tutkimuksen mukaan runsas maidon juonti vähentää rintasyövän riskiä. Suojaava vaikutus saattaa liittyä kalsiumiin tai laktoosiin (Knekt et al. 1996). Useiden tutkimusten mukaan maidon runsas kalsiumpitoisuus vähentää paksusuolen syövän riskiä, osteoporoosin riskiä ja verenpainetta (Lipkin 1998, Miller 1998). Laktoosin eli maitosokerin johdannaisten, kuten laktitolin ja laktuloosin, on todettu edistävän paksusuolen toimintoja. Myös maitorasva saattaa saada uutta myönteistä arvostusta konjugoidun linolihapon (CLA) vuoksi. Tätä rasvahappoa esiintyy luonnostaan vain eläinperäisissä rasvoissa ja erityisen runsaasti sitä on maitorasvassa. CLA:n on todettu olevan biologisesti hyvin aktiivinen, sillä se estää mm. syöpäsolujen kasvua, alentaa veren kolesterolia ja hidastaa rasvasolujen toimintaa koe-eläimissä. Se estää myös bakteerien kasvua ja solujen haptumistapahtumia laboratorio-olosuhteissa (Parodi 1997, Cook & Pariza 1998). Lisätutkimuksia tarvitaan CLA:n todellisen merkityksen selvittämiseksi ihmisen elimistössä. Maidon sisältämät pienimolekyyliset yhdisteet, kuten orgaaniset hapot, vitamiinit ja antioksidanttitekijät ovat myös potentiaalisia kohteita tutkittaessa maidon terveellisiä ominaisuuksia.

Kirjallisuus

- Barth, C.A. & Behnke, U.** 1997. Ernährungsphysiologische Bedeutung von Molke und Molkenbestandteilen. *Nahrung* 41: 2–12.
- Björck, L. & Hopkin, E.** 1991. Significance of the indigenous antimicrobial agents of milk to the dairy industry. *International Dairy Federation Bulletin* 264: 2–19.
- Butler, J.E.** 1994. Passive immunity and immunoglobulin diversity. Proceedings of the IDF seminar "Indigenous antimicrobial agents of milk - Recent developments". IDF Special Issue 9404: 14–50.
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L. & Collins, J.K.** 1998. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. *International Journal of Dairy Technology* 51(4): 123–136.
- Collins, J.K., Thornton, G. & Sullivan, G.O.** 1998. Selection of probiotic strains for human applications. *International Dairy Journal* 8: 487–490.
- Cook, M.E. & Pariza, M.** 1998. The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. *International Dairy Journal* 8: 459–462.
- Daly, C. & Davis, R.** 1998. The biotechnology of lactic acid bacteria with emphasis on applications in food safety and human health. *Agricultural and Food Science in Finland* 7 (2): 51–265.
- Davidson, G.P.** 1996. Passive protection against diarrheal disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 23: 207–212.
- Eriksson, L., Valtonen, M., Laitinen, J.T., Paananen, M. & Kaikkonen, M.** 1998. Diurnal rhythm of melatonin in bovine milk: Pharmacokinetics of exogenous melatonin in lactating cows and goats. *Acta Veterinaria Scandinavica* 39: 301–310.
- Fox, P.F. & Flynn, A.** 1992. Biological properties of milk proteins. In: Fox, P.F. (ed.). *Advanced dairy chemistry, Volume 1, Proteins*. Elsevier Applied Science. p. 255–284.
- Gennadios, A., Hanna, M.A. & Kurth, L.B.** 1997. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: A review. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 30: 337–350.
- Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B.** 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125: 1401–1412.
- Gill, H.S.** 1998. Stimulation of the immune system by lactic cultures. *International Dairy Journal* 8: 535–544.
- Hammarström, L., Gardulf, A., Hammarström, V., Janson, A., Lindberg, K. & Smith, C.I.E.** 1994. Systemic and topical immunoglobulin treatment in immunocompromised patients. *Immunological Reviews* No. 139: 43–70.
- Hettinga, D.** 1998. Functional foods: a market opportunity. *European Dairy Magazine* 6: 14–16.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U. & Huis in't Veld, J.H.J.** 1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology* 41: 85–101.
- IDF 1998. Milk and Health. Proceedings of 25th International Dairy Congress, 21–24 September 1998, Aarhus, Denmark. 181 p.
- Isolauri, E.** 1995. The treatment of cow's milk allergy. *European Journal of Clinical Nutrition* 49: 549–555.
- Jokela, M., Jaakkola, S., Huhtanen, P., Rokka, T., Korhonen, H., Salo-Väänänen, P. & Piironen, V.** 1998. Keskeisten alkutuotantotekijöiden ja prosessin vaikutus maidon laatuun. Kirjallisuuskatsaus. Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisu. Sarja A 41. Jokioinen: Maatalouden tutkimuskeskus. 96 p.
- Knekt, P., Järvinen, R., Seppänen, R., Pukkala, E. & Aromaa, A.** 1996. Intake of dairy products and the risk of breast cancer. *British Journal of Cancer* 73: 687–691.
- Knorr, D.** 1998. Technology aspects related to microorganisms in functional foods. *Trends in Food Science & Technology* 9: 295–306.
- Kontula, P.** 1999. *In vitro* and *in vivo* characterization of potential probiotic lactic acid bacteria and prebiotic carbohydrates. Department of Food Technology. University of Helsinki. *Finnish Journal of Dairy Science* 54 (1): 1–142. Academic dissertation.
- Korhonen, H.** 1998. Colostrum immunoglobulins and the complement system – potential ingredients of functional foods. *International Dairy Federation Bulletin* 336: 36–40.
- , Syväoja, E.-L., Ahola-Luttilla, H., Sivelä, S., Koppola, S., Husu, J. & Kosunen, T.U. 1995. Bactericidal effect of bovine normal and immune serum, colostrum and milk against *Helicobacter pylori*.

–, **Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T.** 1998a. The functional and biological properties of whey proteins: prospects for the development of functional foods. *Agricultural and Food Science in Finland* 7 (2): 283–296.

–, **Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T.** 1998b. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends in Food Science & Technology* 9: 307–319.

–, **Syväoja, E.-L., Ahola-Luttila, H., Sivelä, S., Koppola, S., Husu, J. & Kosunen, T.** 1994. *Helicobacter pylori*-specific antibodies and bactericidal activity in serum, colostrum and milk of immunized and non-immunized cows. Proceedings of the IDF seminar "Indigenous antimicrobial agents of milk - Recent developments". IDF Special Issue 9404: 151–163.

Krochta, J.M., Baldwin, E.A. & Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster: Technomic Publishing Company. 379 p.

Lipkin, M. 1998. Protective effects of dairy foods and their components against colon cancer: studies in preclinical models and human subjects. Proceedings of the 25th International Dairy Congress, 21-24 September 1998, Aarhus, Denmark. p. 88–100.

Loimaranta, V., Tenovuo, J., Virtanen, S., Marnila, P., Syväoja, E.-L., Tupasela, T. & Korhonen, H. 1997. Generation of bovine immune colostrum against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* and its effect on glucose uptake and extracellular polysaccharide formation by mutans streptococci. *Vaccine* 15(11): 1261–1268.

McIntosh, G.H., Royle, P.J., Le Leu, R.K., Regester, G.O., Johnson, M.A., Grinstead, R.L., Kenward, R.S. and Smithers, G.W. 1998. Whey proteins as functional food ingredients? *International Dairy Journal* 8: 425–434.

Meisel, H. 1998. Overview on milk protein-derived peptides. *International Dairy Journal* 8: 363–373.

– & **Schlimme, E.** 1996. Bioactive peptides derived from milk proteins: ingredients for functional foods. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* 48(4): 343–357.

–, **Goepfert, A. & Gunther, S.** 1997. ACE-inhibitory activities in milk products. *Milchwissenschaft* 52: 307–311.

Mero, A., Miikkulainen, H., Riski, J., Pakkanen, R., Aalto, J. & Takala, T. 1997. Effects of bovine colostrum supplementation on serum IGF-I, IgG, hormone, and saliva IgA during training. *Journal of Applied Physiology* 83(4): 1144–1151.

Miller, G.D. 1998. Calcium and dairy foods in reducing hypertension risk. Proceedings of the 25th International Dairy Congress, 21-24 September 1998, Aarhus, Denmark. p. 101–106.

Mulvihill, D.M. 1992. Production, functional properties and utilization of milk protein products. In: Fox, P.F. (ed.). *Advanced dairy chemistry, Volume 1, Proteins*. Elsevier Applied Science. p. 369–404.

Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, S. & Takano, T. 1995. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *Journal of Dairy Science* 78: 777–783.

Nousiainen, J., Korhonen, H., Syväoja, E.-L., Savolainen, S., Saloniemi, H. & Jalonen, H. 1994. The effect of colostrum immunoglobulin supplement on the passive immunity, growth and health of neonatal calves. *Agricultural Science in Finland* 3: 421–428.

O'Carroll, P. 1997. Nutritional beverages. *The World of Ingredients*, August 1997: 19–22.

Oona, M., Rägö, T., Maaros, H.-I., Mikelsaar, M., Loivukene, K., Salminen, S. & Korhonen, H. 1997. *Helicobacter pylori* in children with abdominal complaints: Has immune bovine colostrum some influence on gastritis? *Alpe Adria Microbiology Journal* 6: 49–57.

Ouwehand, A.C. & Salminen, S.J. 1998. Review: The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. *International Dairy Journal* 8: 749–758.

Pakkanen, R. & Aalto, J. 1997. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *International Dairy Journal* 7: 285–297.

Palva, A. 1998. Contribution of modern biotechnology of lactic acid bacteria to development of health-promoting foods. *Agricultural and Food Science in Finland* 7(2): 267–282.

Panyam, D. & Kilara, A. 1996. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends in Food Science & Technology* 7: 120–125.

Parodi, P.W. 1997. Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *Journal of Nutrition* 127: 1055–1060.

Parodi, P.W. 1998. A role for milk proteins in cancer prevention. *Australian Journal of Dairy Technology* 53: 37–47.

Pihlanto-Leppälä, A., Rokka, T. & Korhonen, H.

1998. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. *International Dairy Journal* 8: 325–331.
- Playne, M.J. & Crittenden, R.** 1996. Commercially available oligosaccharides. *International Dairy Federation Bulletin* 313: 10–22.
- Regester, G.O., McIntosh, G.H., Lee, V.W.K. & Smithers, G.W.** 1996. Whey proteins as nutritional and functional food ingredients. *Food Australia* 48: 123–127.
- Riedel, C.-L.** 1995. Die Molke ein modernes Lebensmittel: Teil 1. *Deutsche Milchwirtschaft* 46: 1063–1069.
- Roberfroid, M.B.** 1996. Functional effects of food components and the gastrointestinal system: chicory fructooligosaccharides. *Nutrition Reviews* 54: S38–S42.
- Rokka, T., Syväoja, E.-L., Tuominen, J. & Korhonen, H.** 1997. Release of bioactive peptides by enzymatic proteolysis of *Lactobacillus* GG fermented UHT-milk. *Milchwissenschaft – Milk Science International* 52(12): 675–678.
- Salminen, S. & von Wright, A.** (eds.) 1998. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*, 2nd Edition. New York: Marcel Dekker Inc. 617 p.
- , **Ouwehand, A.C. & Isolauri, E.** 1998a. Clinical applications of probiotic bacteria. *International Dairy Journal* 8: 563–572.
- , **Bouley, C., Boutron-Ruault, M.-C., Cummings, J.H., Franck, A., Gibson, G.R., Isolauri, E., Moreau, M.-C., Roberfroid, M. & Rowland, I.** 1998b. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition* 80 (Suppl. 1): S147–S171.
- Saxelin, M.** 1997. *Lactobacillus* GG – a human probiotic strain with thorough clinical documentation. *Food Reviews International* 13: 293–313.
- Schanbacher, F.L., Talhouk, R.S., Murray, F.A., Gherman, L.I. & Willett, L.B.** 1998. Milk-borne bioactive peptides. *International Dairy Journal* 8: 393–403.
- Sienkiewicz, T. & Riedel, C.-L.** 1990. *Whey and whey utilization*. Gelsenkirchen-Buer, Germany: Verlag Th. Mann. 379 p.
- Smithers, G.W., Ballard, F.J., Copeland, A.D., De Silva, K.J., Dionysius, D.A., Francis, G.L., Goddard, C., Grieve, P.A., McIntosh, G.H., Mitchell, I.R., Pearce, R.J. & Regester, G.O.** 1996. New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. *Journal of Dairy Science* 79: 1454–1459.
- Solis-Pereyra, B. & Lemonnier, D.** 1996. Induction of human cytokines by bacteria used in dairy foods. *Nutrition Research* 13: 1127–1140.
- Stanton, C., Gardiner, G., Lynch, P.B., Collins, J.K., Fitzgerald, G. & Ross, R.P.** 1998. Probiotic cheese. *International Dairy Journal* 8: 491–496.
- Sütas, Y., Soppi, E., Korhonen, H., Syväoja, E.-L., Saxelin, M., Rokka, T. & Isolauri, E.** 1996. Suppression of lymphocyte proliferation in vitro by bovine caseins hydrolyzed with *Lactobacillus casei* GG-derived enzymes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 98 (1): 216–224.
- Takano, T.** 1998. Milk derived peptides and hypertension reduction. *International Dairy Journal* 8: 375–381.
- Tomé, D.** 1998. Bioactive peptides and proteins from milk – potential health benefits. Proceedings of the 25th International Dairy Congress, 21–24 September 1998, Aarhus, Denmark. p.163–180.
- Tupasela, T. & Korhonen, H.** 1998. Juustoherasta voi valmistaa monia terveysvaikutteisia elintarvikkeita. *Kemia-Kemi* 25(3): 239–243.
- Wit, J.N. de** 1998. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science* 81: 597–608.
- & **Hooydonk, A.C.M. van** 1996. Structure, functions and applications of lactoperoxidase in natural antimicrobial systems. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 50: 227–244.
- Xu, R.-J.** 1998. Bioactive peptides in milk and their biological and health implications. *Food Reviews International* 14(1): 1–16.
- Yamamoto, N., Akino, A. & Takano, T.** 1994. Anti-hypertensive effects of different kinds of fermented milk in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 58: 776–778.
- Ylitalo, S., Uhari, M., Rasi, S., Pudas, J. & Leppäluoto, J.** 1998. Rotaviral antibodies in the treatment of acute rotaviral gastroenteritis. *Acta Paediatrica* 87(3): 264–267.

Maidon alkutuotannon kilpailukyvyn vahvistaminen

Nurmirehun biologisen säilönnän optimointi

Seija Jaakkola¹⁾, Taina Jalava¹⁾, Eeva Saarisalo¹⁾, Pekka Huhtanen¹⁾,
Eija Skyttä²⁾, Atte von Wright²⁾ & Auli Haikara²⁾

¹⁾ *Maatalouden tutkimuskeskus, Kotieläintuotannon tutkimus, 31600 Jokioinen*
²⁾ *VTT, Bio- ja elintarviketekniikka, PL 1501, 02044 VTT*

Hankkeen tavoitteena oli tuottaa lisää tietoa biologisen rehunsäilönnän perusteista käytettävissä maitohappobakteereita säilöntäaineena. Käytäntöön liittyen lopullisena tavoitteena on parantaa säilönnän varmuutta sekä taata runsas säilörehun syönti ja maidon hyvä hygieeninen laatu. Myös rehusta saatavien ravintoaineiden saantia optimoidaan maidon nykyisten koostumustavoitteiden kannalta. Tutkimuksissa pyrittiin koostamaan tehokkaasti toimivia kantayhdistelmiä, joita voitaisiin käyttää säilöntäaineessa. Keskeisessä asemassa olivat VTT:ssa eristetyt maitohappobakteerikannat. Mielenkiintoisimpia kantoja tutkittiin laboratoriossa rehusäilönnän tarpeita ajatellen ja niiden käyttöä kokeiltiin säilöntäkokeissa. Yhteensä tehtiin seitsemän säilöntäkoetta, joissa saatiin tarkennettua tietoa maitohappobakteereiden tärkeimmistä ominaisuuksista eli maitohapon tuotosta, val-

kuaisaineiden hajoamisesta ja pilaaajaorganismien toiminnan estämisestä sekä säilönnän aikana että siilon avaamisen jälkeen. Säilöntätulosta verrattiin painorehuun (ei säilöntäainetta) ja muurahaishapolla säilöttyyn rehuun. Siilon avaamisen jälkeen painorehussa ja maitohappobakteereilla säilötyssä rehussa ongelmia aiheuttivat ensisijassa hiivat ja muurahaishapolla säilötyssä rehussa homeet. Tutkimuksessa selvitettiin myös erilaisten yhdistelmien toimivuutta säilöntäaineena. Soluseinämiä hajottavien entsyymien ja propionihappobakteerin käyttö yhdessä maitohappobakteerin kanssa ei kuitenkaan parantanut säilöntätulosta. Laboratoriomittakaavassa painorehuun ja muurahaishapporehuun verrattuna parhaimmin toimineet maitohappobakteerikannat testataan seuraavassa tutkimusvaiheessa maatalaosuhteissa.

Avainsanat: maitohappobakteeri, muurahaishappo, nurmisäilörehu, säilöntäaine

Johdanto

Nurmirehun korjuu säilörehuksi talvikauden ruokintaa varten on korvannut maassamme lähes kokonaan kuivan heinän valmistuksen. Yksi tärkeimmistä edellytyksistä säilörehun runsaalle käytölle on sen hyvä säilönnällinen laatu. Happopohjaisten säilöntäaineiden avulla on hyvä laatu yleensä saavutettu vaikeissakin säilöntäolosuhteissa. Kiinnostus haposäilöntää korvaavia nurmirehun säilöntämenetelmiä kohtaan on viime vuosina ollut suurta. Maitohappobakteereihin ja/tai entsyymeihin perustuvilla ns. biologisilla säilöntäaineilla pyritään tehostamaan rehun luontaista maitohappokäymistä ja siten parantamaan rehun säilyvyyttä.

Biologisella säilönnällä on omat etunsa. Sen avulla voidaan mahdollisesti alentaa maidon rasvapitoisuutta, mikä on otettu yhdeksi ruokinnan tavoitteeksi. Myös luomutuotannon näkökulmasta biologista säilöntää on pidetty haposäilöntää parempana vaihtoehtona. Varsinkin pyöröpaalauksella tehdyn esikuivatun rehun yhteydessä säilöntäaineiden käytöstä on yhä useammin luovuttu. Tämä on erittäin huolestuttavaa ajatellen sekä rehun että maidon hygieenistä laatua. Biologisen säilöntäaineen käyttö olisi huomattavasti parempi vaihtoehto kuin rehun teko ilman säilöntäainetta.

Rehun laatuominaisuuksien säilyminen tai jopa paraneminen tulee huolellisesti varmistaa biologisia menetelmiä kehitettäessä. Vaikka nurmirehun biologiseen säilöntään markkinoitujen heräteviljelmien määrä on kasvanut jatkuvasti, kaupallisten kantojen ominaisuudet ja erityispiirteet rehussa tunnetaan usein puutteellisesti. Näiden ominaisuuksien tunteminen on kuitenkin hallitun bioprosessin perusedellytys.

Hankkeen tavoitteena oli tuottaa lisää tietoa biologisen rehunsäilönnän perusteista. Käytäntöön liittyen lopullisena tavoitteena on parantaa säilönnän varmuutta sekä taata runsas säilörehun syönti ja maidon hyvä hygieeninen laatu. Myös rehusta saatavien ravintoaineiden saantia pyritään op-

timoimaan maidon nykyisten koostumus- tavoitteiden kannalta. Näiden tarkoitusten saavuttamiseksi tutkimuksissa pyrittiin koostamaan tehokkaasti toimivia kantayhdistelmiä, joita voitaisiin käyttää säilöntäaineissa. Erityistä huomiota kiinnitettiin maitohappobakteereiden tuottamien, pienimolekyylisten antimikrobisten yhdisteiden hyväksikäyttöön pH-vaikutusten täydentäjänä pilaajaorganismien kasvun estämiseksi. Tavoitteena oli, että laboratorio- ja pilotmittakaavan säilöntäkokeiden avulla voitaisiin löytää parhaiten toimivat säilöntäainekomponentit jatkotutkimuksiin maatalaolosuhteissa.

Aineisto ja menetelmät

Keskeisessä asemassa projektin tutkimuksissa olivat VTT:ssä eristetyt maitohappobakteerikannat, joiden on aiemmin todettu tuottavan useita pienimolekyylisiä antimikrobisia yhdisteitä. Mielenkiintoisimpia kantoja tutkittiin rehusäilönnän tarpeita ajatellen ja niiden käyttöä kokeiltiin säilöntäkokeissa. Yhteensä tehtiin seitsemän säilöntäkokeita. Pyrittäessä edelleen parantamaan säilöntätulosta kyseisen maitohappobakteerin toimintaa tutkittiin myös yhdistelmänä entsyymien ja propionihappobakteerin kanssa. Kaksi kokeista tehtiin pilotmittakaavassa (500–1000 kg/siilo). Tavoitteena oli selvittää, kuinka laboratoriosiiloissa (0,1 kg/siilo) hyvin toiminut maitohappobakteerikanta toimii suuremmissa siiloissa.

Kaikissa säilöntäkokeissa oli maitohappobakteereilla tehdyn rehun lisäksi kontrolleina ilman säilöntäainetta valmistettu painorehu ja tavanomaisesti muurahaihapolla säilötty rehu (4 l/t). Käymisprosessin kulun selvittämiseksi laboratoriosiiloja avattiin eri aikoina, esimerkiksi 1, 3, 7, 14, 21, 42, 62 ja 84 vuorokauden kuluttua säilönnän alusta. Säilönnän aikana mitattiin kaasun muodostus, mikä kuvaa tappioita ja edellä mainittuina ajankohtina säilörehuista tehtiin sekä kemialliset että mikrobiologiset analyysit. Aerobisen pilaantumisen tutkimiseksi koe-

sarjan seuranta jatkettiin siilojen avaamisen jälkeen sekä kemiallisin että mikrobiologisin analyysin.

Säilörehun laatu arvioitiin tavallisten kemiallisten laatuparametrien perusteella, jotka kuvaavat käymisen puhtautta ja/tai hajoamisreaktioiden voimakkuutta. Virallisen laatuluokituksen perustana ovat rehun maito-, etikka- ja voihapsen pitoisuudet, ammoniumtyypen määrä kokonaistypestä ja happamuus. Tämän lisäksi tutkimuksissa analysoitiin vesiliukoiset hiilihydraatit (sokeri), muut haihtuvat rasvahapot, etanoli ja liukoinen typpi. Rehun hygieenisen laadun ja stabiilisuuden kannalta tavoitteena on, että myös rehun mikrobiologinen laatu on hyvä. Heikosta mikrobiologisesta laadusta ovat osoituksena lisääntyneet klostridien, pilaajahiivojen sekä -homeiden määrät. Rehuista määritettiin lisäksi aerobiset bakteerit, maitohappobakteerit ja enterobakteerit.

Tulokset ja niiden tarkastelu

Tuoreen rehun säilöntä perustuu happamuuteen ja hapettomuuteen. Rehun happamuus eli suuri vetyionipitoisuus estää haitallisten mikrobien ja kasviensyymien toimintaa. Muurahaishapon käyttö säilöntäaineena liittyy kahteen tekijään. Toisaalta se lisää vetyionipitoisuutta ja laskee rehun pH:ta oman happovaikutuksensa ansiosta. Toisaalta dissosioitumaton happo estää mikrobien toimintaa. Pyrittäessä yhtä hyvään tai parempaan säilöntätulokseen kuin muurahaishappoa käyttämällä on biologisten säilöntäaineiden pystyttävä omalla tavallaan vastaaviin vaikutuksiin.

Mikrobiologisesti katsottuna nurmirehun säilönnän kriittiset vaiheet keskittyvät kahteen ajanjaksoon. Säilönnän onnistumisen kannalta ensimmäinen kriittinen vaihe ajoittuu heti siilon sulkemisen jälkeiseen jaksoon, jolloin heräteviljelmäksi valitun maitohappobakteerikannan on kyettävä nopeasti ja tehokkaasti alentamaan raaka-

aineen pH lähinnä maitohappoa tuottamalla. Säilöntäaineeksi valittavan kannan on myös oltava kilpailukykyinen. Sen on saatava nopeasti hallitseva asema raaka-aineen luontaiseen maitohappobakteeriflooraan nähden ja myös säilytettävä asemansa. Edellytyksenä tälle on, että ruohon silppuamisen ja säilöntäaineen levittämisen välinen aika ei ole liian pitkä. Ruohossa oleva luontainen mikrobifloora lisääntyy voimakkaasti juuri silppuamisen jälkeen, jolloin se voi saada kilpailutilanteessa yllätteen vasta myöhemmin lisäystä kannasta. Tämä todettiin kahdessa pilotmittakaavan kokeessa, joista toisessa maitohappobakteeri lisättiin pellolla silppurista ja toisessa vasta siilon täytön yhteydessä.

Toinen mikrobiologisesti kriittinen vaihe ajoittuu siilon avaamisen jälkeiseen aikaan, jolloin asteittain hapellisiksi muuttuvat ympäristöolosuhteet mahdollistavat aerobisen pilaantumisen käynnistymisen. Eriytyisen ongelman muodostavat maitohappoa hiilenlähteenään käyttämään pystyvät hiivat kuten myös juustonvalmistuksessa ongelmia aiheuttavat klostridit. Myös anaerobisesta säilöntäajaksosta selviytyneet homeet, jotka voivat olla peräisin heikkolaa-tuisesta raaka-aineesta, ovat haitallisia rehun laadun kannalta. Nyt päättyneen projektin säilöntäkokeissa rehun mikrobiologisen laadun seuranta jatkettiin siilon avaamisen jälkeen noin viikon ajan. Hiivakasvun nopea voimistuminen siilon avaamisen jälkeen oli useassa koesarjassa selvästi havaittavissa. Eriytyisen nopeasti kasvu käynnistyi painorehuissa. Myös biologisesti säilötyissä rehuissa hiivojen kasvu oli viikon kuluttua siilojen avaamisen jälkeen lähes poikkeuksetta voimakasta. Muurahaishapporehuissa oli hiivakasvun sijasta siilon avaamisen jälkeen ongelmia homeiden lisääntymisen kanssa. Klostridien voimakasta kasvua siilon avaamisen jälkeen todettiin vain yhdellä säilöntäkerralla, jolloin käytetyn raaka-aineen mikrobiologinen laatu oli poikkeuksellisen heikko. Tällöin kasvua esiintyi kaikissa koe-erissä, säilöntäkäsitte-lystä riippumatta.

Tutkimuksessa pyrittiin tehostamaan maitohappobakteerikannan toimivuutta yhdistämällä säilöntäaineeseen myös muita vaikuttavia aineosia. Tavoitteena oli myös saada tarkennettua tietoa käymisprosessin vaiheista käytettäessä erilaisia yhdistelmiä. Propionihappobakteerin käytön tavoitteena oli tuottaa rehuun propionihappoa, jonka tiedetään estävän homeiden ja hiivojen toimintaa. Näiden pilaaajaorganismien toiminnan estäminen olisi tärkeää nimenomaan aerobisessa vaiheessa siilon avaamisen jälkeen. Säilöntäkokeeseen valittu propionihappokanta ei kuitenkaan vaikuttanut rehun käymistyyppiin eikä rehussa todettu propionihappoa ollenkaan. Ilmeisesti kanta ei kyennyt toimimaan rehun pH:n ollessa alhainen. Tässä tutkimuksessa ei siten löydetty propionihappokantaa, joka olisi toiminut tavoitteen mukaisesti.

Soluseinämiä hajottavien entsyymien käyttö säilönnässä perustuu ajatukseen, että maitohappobakteereille käyttökelpoisten liukoisten hiilihidraattien määrä lisääntyy. Entsyymien ei ole osoitettu parantavan rehun sulavuutta, vaikka tämä tavoite onkin joskus mainittu soluseinämiä hajottavien säilöntäentsyymien yhteydessä. Myös entsyymien vaikutus rehujen säilönnälliseen laatuun oli melko vähäinen tässä tutkimuksessa. Se ei vaikuttanut oleellisesti maitohappobakteerilla säilötyn rehun käymiseen, vaikka rehun jäännössokerin pitoisuus olikin hiukan suurempi käytettäessä entsyymiä. Havaitut muutokset eli etikkahapon, etanolin ja liukoisen typen lievä lisääntyminen eivät myöskään olleet halutun suuntaisia. Rehun mikrobiologisessa laadussa ei todettu eroja ilman entsyymejä tai entsyymien kanssa.

Johtopäätökset

- Biologisessa säilönnässä hyvän säilöntätuloksen varmistamisen peruslähtökohdaksi on toiminnallisesti luotettavan heinäviljelmäkannan käyttö.
- Käytettävän kannan tärkeimpiä ominaisuuksia ovat maitohapon tuotto, valkuaisaineiden mahdollisimman vähäinen hajoaminen ja pilaaajaorganismien toiminnan estäminen sekä säilönnän aikana että siilon avaamisen jälkeen.
- Maitohappobakteereja sisältävä säilöntäaine on levitettävä pellolla rehun silppuamisen yhteydessä. Nurmikasvuston luontainen mikrobisto saattaa muussa tapauksessa saada kilpailutilanteessa yliotteen ja ohjata käymisprosessin väärään suuntaan.
- Siilon avaamisen jälkeen hiivakasvu oli nopeinta painorehuissa. Myös biologisesti säilötyissä rehuissa hiivojen kasvu oli viikon kuluttua siilojen avaamisen jälkeen lähes poikkeuksetta voimakasta.
- Muurahaishapporehuissa oli hiivakasvun sijasta siilon avaamisen jälkeen ongelmia homeiden lisääntymisen kanssa.
- Tutkimuksessa saatiin maitohappobakteerien toiminnasta ja vaikutuksista rehun kemialliseen ja mikrobiologiseen laatuun runsaasti uutta tietoa. Tavoitteena on jatkaa tutkimuksia, jotta toiminta voidaan varmistaa myös maatalaolosuhteissa.

Karjantarkkailun koelypsykohtaisten mittausten käyttäminen eläinarvostelussa ja tuotannon ohjauksessa

Esa Mäntysaari¹⁾, Pekka Huhtanen¹⁾, Kaisa Kaustell¹⁾, Anne Kettunen¹⁾,
Martin Lidauer¹⁾, Jukka Pösö²⁾ & Ismo Strandén¹⁾

¹⁾ *Maatalouden tutkimuskeskus, Kotieläintuotannon tutkimus, 31600 Jokioinen*

²⁾ *Suomen Kotieläinjalostusosuuskunta, PL 40, 01301 Vantaa*

Nykyiset lehmien jalostusarvostelut perustuvat lehmien 305 päivän tuotostietojen käyttöön. Tämä perustuu lehmän kymmeneen ensimmäiseen koelypsytulokseen. Niitä painotetaan koelypsykausien pituuksilla. Tuotostietoja kuvataan tilastollisella mallilla, jossa on otettu huomioon tila, vuosi, poikimakuukausi sekä poikimaikä/tyhjäksi -yhdysvaikutukset. Suurin ongelma suomalaisen aineiston analysoinnissa on pieni karjakoko, jonka takia karjakohtaisten poikimakuukausivaikutusten mallintaminen ei ole mahdollista. Alkuperäisten koelypsykohtaisten mittausten käyttö lisää lehmäkohtaisten informaation määrää ja mahdollistaa karjakohtaisten ympäristövaikutusten kuvaamisen, lehmäkohtaisten lypsykäyrien arvioimisen, kuukausittaisten koelypsypäivävaikutusten mallintamisen ja

lypsykauden eri koelypsykertojen painottamisen niiden varianssi- kovarianssirakenteen mukaisesti. Kahta mallintamisen sivutuotetta, vuosittaisten koelypsykuukausien vaikutusta ja yksittäisen eläimen jäännöspoikkeamaa, on mahdollista käyttää tuotannon seurannassa ja -ohjauksessa, esimerkiksi tulevan kassavirran ennustamiseen tai tuotantokiintiöiden täyttymisen seuraamiseen. Hankkeen lopullisena tavoitteena on tuottaa sekä eläinarvostelujärjestelmä että tuotannon ohjaussovellutus, joka hyödyntää arvostelujen sivutuotteena syntyviä tilan hoitoympäristöä kuvaavia kuukausiratkaisuja.

Avainsanat: eläinarvostelu, jalostus, lypsykarja

Johdanto

Nykyisen tavan mukaan lypsykarjan tuotanto-ominaisuuksien jalostusarvostelut lasketaan lypsykausikohtaisista niin sanotun 305 päivän tuotoksista. Nämä lasketaan summaamalla kuukausittaisten koelypsytulosten perusteella arvioidut koelypsykausien tuotantomäärät yhteen. Tuotoksia mallinnettaessa ympäristötekijät määritellään yleensä poikimiseen liittyvillä tekijöillä: poikimakarja, karjavuosi, poikimikä, poikimavuodenaika, yms. Koska itse tuotanto ajoittuu poikimisen jälkeen 10 kuukauden ajanjaksolle, ei pelkkä poikima-ajankohta pysty tarkasti kuvaamaan ympäristövaikutuksia. Esimerkiksi meillä käytössä olevassa eläinmalliarvostelussa maaliskuussa ja huhtikuussa poikineet lehmät luokitellaan kuuluviksi eri karjavuosi-ryhmiin, vaikka kymmenestä koelypsystä kahdeksan on mitattu samoina mittalypsy-päivinä. Samanaikainen peittovaikutus näkyy vuodenaikaisvaihtelua kuvaavassa poikimakuukausitekijässä. Kun esimerkiksi vuodenajan suora vaikutus maidon valkuaispitoisuuteen on yli 0,2 %-yksikköä, jää poikima-ajankohdittain vaihteluksi vain noin puolet tästä.

Koillis-USA:ssa ja Australiassa eläin-arvostelut perustuvat korjattuihin lypsykauden tuotoksiin, joista ennen tuotosten summaamista on poistettu lehmän iän, lypsykauden vaiheen, tiineyden, poikimakuukauden ja karjan koelypsypäivän vaikutukset (Everett & Schmitz 1994). Menettelyllä saadaan poistetuksi osa häiritsevistä ympäristövaikutuksista ja tämä näkyy muun muassa korjattujen tuotosten noin 10 % korkeampana periytyvyysasteena kuin mitä arvioidaan perinteisille 305 päivän tuotoksille.

Tehokkaampaa on käyttää jalostusarvostelujen tietolähteenä suoraan kuukausikohtaisia mittauksia. Tätä esittivät Ptak ja Schaeffer (1993). He lisäsivät Everett'in ja Schmitz'in (1994) kuvaamat ympäristötekijät itse arvostelumalliin ja esittivät jalostusarvojen ratkaisemiseksi yksinkertaista toistuvuusmallia. Lypsykauden vaihetta

kuvaamaan käytettiin viiden tekijän regressioyhtälöä, joka sisälsi laktaatiovaiheen (days in milk, dim), sen logaritmin (log(dim)) sekä näiden neliöt. Näin arvostelut perustuivat yksittäisiin päivätuotoksiin, ja eläimiä vertailtiin keskenään lypsykauden vaiheen mukaan korjattujen lypsykäyrien korkeuden suhteen. Mallia alettiin käyttää somaattisen soluluvun arvosteluissa Kanadassa, ja nyt myös maidon tuotanto-ominaisuusarvosteluissa Saksassa (Reents et al. 1995). Toistuvuusmallin tapaan kyseisessä menettelyssä oletetaan, että eläimen jalostusarvo vaikuttaa tuotokseen saman verran kaikissa lypsykauden vaiheissa eli geneettinen korrelaatio ensimmäisen ja esimerkiksi yhdeksannen mittauksen välillä on yksi. Samoin oletetaan, että perinnöllinen vaihtelu on sama kaikissa lypsykauden vaiheissa. Schaeffer ja Dekkers (1994) kehittivät mallia määrittelemällä myös jalostusarvot regressiokertoimiksi, jolloin eläimen vaikutus tuotokseen muuttuu lypsykauden vaiheen funktiona. Jalostusarvoja selittävänä satunnaisregressiomallina (SR-malli) käytettiin samaa funktiota kuin Ptak ja Schaeffer (1993) käyttivät kiinteänä regressioyhtälönä. Mallin mukaisesti jokaiselle eläimelle muodostuu yksilöllinen perinnöllinen lypsykäyrä kuvaamaan sen poikkeamaa keskimääräisestä käyrästä. Teoriassa SR-malli mahdollistaa eri periytyvyysasteet laktaation eri vaiheissa ja vapaasti mallinnettavat geneettiset korrelaatiot koelypsyjen välille.

Lypsykausikohtaisiin tuloksiin perustuvissa arvosteluissa lehmälle kertyy uutta, omaa informaatiota vain kerran vuodessa. Tämän vuoksi Suomessa on päädytty laajentamaan kaikkien vähintään 95 päivää tuotannossa olleiden ensikoiden osatuotokset täysiksi 305 päivän tuotoksiksi. Näin nuorten sonnien ensimmäisistä jälkeläisarvosteluista tulee nopeammin luotettavia. Ensikoille menettelystä on harvoin hyötyä, koska yleensä siemennyspäätökset joudutaan tekemään ennen indeksien valmistamista. Alkuperäiset koelypsymittaukset hyödyntävässä arvostelussa keskeneräisiä lypsykausia ei tarvitse erikseen laajentaa vaan jokainen mittaus voidaan käyttää heti

hyödyksi. Koelypsymallilla on myös helppoa laskea karjalle uudet arvostelut heti koelypsypäivän jälkeen, jolloin käytettävissä on kaikki saatavissa oleva jalostusinformaatio. Lohuis et al. (1993) arvioivat, että jatkuvasti päivittyvillä indekseillä saavutettaisiin noin 7–9 % parempi perinnöllinen edistyminen kuin käytettäessä kaksi kertaa vuodessa laskettavia indeksejä. Pääosa tästä edistymisestä johtuu sonninemän valintapolun sukupolvenvälin lyhentymisestä, kun nuorille lehmille saadaan luotettavamat indeksit joko heti ensikkopoikimisen tai viimeistään toisen poikimisen jälkeen.

Koelypsykohtaisten mittausten hyväksikäyttöön tähtäävä tutkimushanke alkoi 1995. Tavoitteeksi asetettiin järjestelmä, joka mahdollistaisi kuukausittaisen informaation hyväksikäytön jopa jatkuvasti päivitettävien arvostelujen muodossa, ja tuottaisi arvostelutietoa eläinten jalostusarvosta yksilöllisen lypsykäyrän suhteen. Lisätavoitteena oli koelypsymallin tuottaman karjakohtaisen koelypsypäivävaikutuksen käyttäminen managementti-päätösten apuvälineenä. Samalla haluttiin kartoittaa voidaanko karjojen ruokintatiedot sisältävää rehunkulutustietokantaa käyttää karja-kuukausi-ratkaisujen ennustamiseen. Rehunkulutustietokannan lisäksi päätettiin kerätä tilojen tuotantoympäristöä, kuten navettatyyppiä, lypsykonetta jne., kuvaava täysin uusi karjataustatietokanta.

Projektissa ovat olleet mukana MTT:n lisäksi Kotieläinjalostuskeskus FABAs, Maatalouden Laskentakeskus, Valio ja Maaseutukeskusten liitto. Projektin rahoitus jakaantui lähes tasan MTT:n ja maa- ja metsätalousministeriön Maidon uudet sovellukset -tutkimusrahoituksen sekä tutkimusyhteistyökumppaneiden sopimusrahoituksen kesken.

Tässä kirjoituksessa koelypsyprojektin osahankkeet esitetään neljänä erillisenä osana:

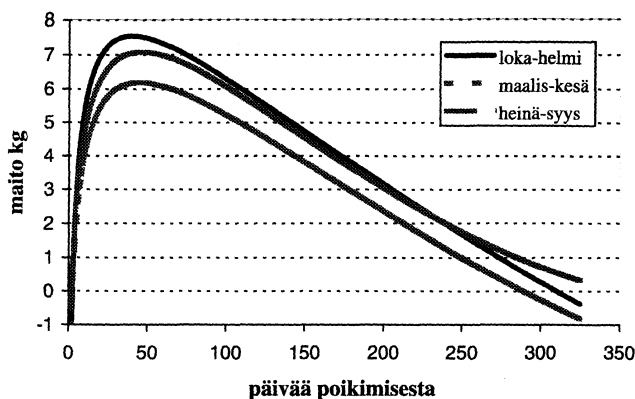
1. Kuukausittaisiin koelypsytuloksiin vaikuttavien tekijöiden kuvaaminen jalostusarvostelumallissa.
2. Eläinkohtaisen yksilöllisen lypsykäyrän kuvaaminen satunnaisregressiomallilla.

3. Tietokoneohjelmisto koelypsymallin ja eläinten jatkuvasti päivittyvien jalostusarvojen ratkaisemiseen.
4. Koelypsykohtaisten mittausten käyttö lypsykarjatilän tuotannon ohjauksessa.

Kuukausittaisiin koelypsytuloksiin vaikuttavien tekijöiden kuvaaminen jalostusarvostelumallissa.

Nykyisessä 305 päivän tuotoksiin perustuvassa eläinten jalostusarvostelumallissa tärkein tuotantoympäristöä kuvaava tekijä on karja-poikimavuosi -vertailuryhmä, joka pyrkii kuvaamaan yksittäisen karjan hoito- ja ruokintatasoa sekä satovuoden vaikutusta. Tämän lisäksi huomioidaan kaikille karjoille yhteiset poikimavuoden-vuodenajan sekä poikimäin vaikutukset. Maisissa, joissa karjakoko on suurempi, ensisijaisen vertailuryhmän muodostavat samassa karjassa samaan vuodenaikaan poikineet lehmät. Meillä pienten karjojen vuoksi vuodenaikaisvaihtelua ei ole voitu mallintaa karjoittain, vaan on jouduttu olettamaan poikimakuukausien vaikutuksen olevan sama kaikissa karjoissa. Koelypsykohtaisessa mallissa ensisijaisen vertailuryhmän muodostavat samassa karjassa samana mittalypsyypäivänä tuottavat lehmät. Tällöin karjakohtainen vuodenaikaisvaihtelu päästään kuvaamaan tarkasti. Karjan sisäisen kuukausivaihtelun mallintamista tutkittiin vertaamalla kolmea eri vertailuryhmää määrittäystä. Karja-vuosi -vaikutus vastasi nykyisillä lypsykauden tuotoksilla käytettyä, karja-koelypsyvuodenaika -tekijä muodostettiin jakamalla vuosi neljään eri vuodenaikaan, ja karja-koelypsykuukausi mallinsi suoraan jokaisen mittalypsykerran erikseen. Yksittäisten kuukausivaikutusten ottaminen malliin johti korkeimpaan periytymisasteen arvioon, ja ennen kaikkea mallin jäännöstermin vaihtelu jäi selvästi alhaisemmaksi (Pösö et al. 1998). Malli, jossa karjansisäinen koelypsypäivien välinen vaihtelu otettiin huomioon, antoi h^2 arvioksi 0,25 ja lypsykauden sisäiseksi toistuvuudeksi 0,61.

Kun karjan koelypsykuukauden myötä arvostelumallissa on tuotantoajankohta, ei



Kuva 1. Koelypsymallilla lasketut keskimääräiset lypsykäyrän muodot eri vuodenaikoina poikineille ensikoille. Päivittäiset tuotokset esitetty poikkeamina keskimääräisestä tuotantotasosta.

poikimavuodenajan tarpeellisuus enää ole ilmeinen. Todettiin kuitenkin, että eri vuodenaikoina poikineille lehmillä kausivaihtelu oli erilaista. Tämä johti selvästi eri poikimaryhmillä erilaisiin lypsykäyriin. Kuvan 1 perusteella on nähtävissä, miten eri aikaan poikineet ensikot ovat reagoineet esimerkiksi laidunkauden alkamiseen.

Lypsykauden tuotoksia käsiteltäessä on havaittu, että aikaisin poikimisen jälkeen tiinehtyvillä eläimillä tuotantotulos on lypsykauden lopussa heikompi kuin myöhemmin tiinehtyvillä. Syy tähän on kasvavan sikiön aiheuttama ravinnon tarve. Koelypsykohtainen malli mahdollistaa eläimen tiineyden vaiheen vaikutuksen kuvaamisen suoraan koelypsytuotoksissa. Tulosten mukaan tiineyden edettyä kuusi kuukautta sen tuotantoa alentava vaikutus oli 1,8 kg, ja seitsemän kuukautta kestäneen tiineyden vaikutus oli jo 3,8 kg päivätuotoksessa (Pösö et al. 1999).

Eläinakohtaisen yksilöllisen lypsykäyrän kuvaaminen satunnaisregressiomallilla

Eläinperäisten tekijöiden vaikutukset koelypsytuotokseen voidaan jakaa sekä perinnöllisiin että yksilöllisiin liittyviin tekijöihin, jotka eivät periydy. Ensimmäistä pidetään eläimen jalostusarvona ja jälkimmäistä kut-

sutaan

niin sanotuksi eläinakohtaiseksi pysyväksi ympäristövaikutukseksi. Määre "pysyvä" kuvaa sen tavoitetta erottaa eläimellä toistuva (satunnainen) ympäristövaikutus yksittäisiin koelypsyihin liittyvistä satunnaisvaikutuksista (mittausvirheestä ym.). Olenainen osa koelypsymallia on kehittää funktio, joka tyydyttävästi kuvaa eläinperäisiä vaikutuksia lypsykauden edetessä.

Eri funktioiden toimivuuden vertailupeerustaksi laskettiin niin sanottua lypsykauden vaiheen mukainen monen ominaisuuden malli, jossa kukin lypsykauden vaihe edusti omaa ominaisuuttaan. Tästä voitiin laskea odotetut periytyvyysasteet lypsykauden eri vaiheissa, sekä niiden väliset geneettiset että ympäristökorrelaatiot (Kettunen & Mäntysaari 1996, Kettunen et al. 1998). Näitä verrattiin eri tyyppisiin SR-mallein laskettuihin arvioihin päivätuotosten geneettisistä tunnusluvuista. Perusoletus oli, että toimivalla SR-mallilla lasketut parametrit vastaisivat monen ominaisuuden mallilla laskettuja.

Testattuja funktioita olivat viisi eläinakohtaista regressiotekijää sisältävä niin kutsuttu logaritminen polynomi, neljä regressiotekijää sisältävä kolmannen asteen ortogonaalinen polynomifunktio sekä kolme parametriä sisältävä niin sanottu Wilminck-funktio. Saadut tulokset eivät kuitenkaan vastanneet odotuksia. Kaikki kolme testattua funktiotyyppiä antoivat arvioita, joiden mukaan maitotuotoksen periytymisaste lypsykauden alussa ensin laskee, kun-

nes se jälleen lypsykauden loppua kohti alkaa uudelleen kohota. Monen ominaisuuden mallilla laskettujen tulosten perusteella odotettiin täysin päinvastaista. Geneettiset korrelaatiot toisiaan lähellä olleiden mittausten välillä olivat korkeita, mutta putosivat nopeasti jopa niin, että korrelaatio alun ja lopun välillä oli negatiivinen. Nämä tulokset esitettiin American Dairy Science kokouksessa Kanadassa kesäkuussa 1997 (Kettunen et al. 1997). Esityksen pohjalta virisi vilkas keskustelu. Tämä jatkui heinäkuun ajan eläinjalostajien sähköpostiverkossa (Animal Genetists Discussion Group). Ongelman epäiltiin olevan puutteellisesti mallinnetussa jäännösvaihtelussa. Sitä oli kuvattu yhdellä lehmäkohtaisella tekijällä ja jokaiseen havaintoon liittyvällä mittausvirhetermillä. Niinpä päätettiin siirtyä kehittyneempään malliin, jossa myös pysyvää ympäristötekijää alettiin kuvata SR-mallilla. Nyt periytyvyysasteet lähenivät huomattavasti odotettuja, ja ennen kaikkea geneettiset korrelaatiot lypsykauden vaiheiden välillä nousivat merkittävästi. Keskustelun jälkeen samanlaisiin malleihin päätyivät myös muut SR-funktioita käyttäneet koelypsyymallia tutkivat ryhmät.

Lypsykauden alulle SR-malli kuitenkin arvioi yhä selvästi korkeamman periytyvyysasteen. Koska tämä oli odotusten kanssa ristiriidassa, päädyttiin menettelyyn, jossa varianssikomponentit lasketaan monen ominaisuuden REML-analyysinä. Näiden perusteella muodostetaan niin sanotut kovarianssifunktiot, jotka mahdollistavat eri lypsykauden vaiheissa laskettujen parametrien soveltamisen mihin tahansa lypsykauden päivätuotokseen. Kovarianssifunktiolle johdettuja kerroinmatriiseja voidaan siten suoraan käyttää jalostusarvosteluisa SR-kertoimien varianssi-kovarianssi-matriiseina. Ensikkotuotoksista monen

ominaisuuden analyysit tehtiin maidolle, rasvalle, valkuaiselle ja somaattiselle soluluvulle viidessä eri lypsykauden vaiheessa. Arvioitava varianssi-kovarianssi -matriisi oli kooltaan 20 kertaa 20, ja sen arvioimiseksi tehtiin yhteensä 28 REML-analyysiä, joissa oli mukana neljästä viiteen ominaisuutta kerralla. Seuraavaksi työtä jatkettiin arvioiden samojen ominaisuuksien sekä samojen lypsykauden vaiheiden varianssit ja kovarianssit toisella lypsykaudella, sekä lypsykausien välillä. Vuoden 1998 loppuun mennessä ehdittiin laskea 116 REML-analyysiä ja saatiin jo melko kattava (45 % elementeistä) varianssikovarianssimatriisi arvio. Erillisten varianssikomponenttianalyysiarvioiden yhdistämistä yhdeksi kokonaisuudeksi kokeiltiin useilla tavoilla, mutta ongelmana oli yksittäisten arvioiden runsas vaihtelu. Ensikko-ominaisuuksista tehdyt ajot yhdistettiin lopulta varta vasten kehitetyllä EM-algoritmilla, jossa täydelliseksi havaintoavaruuksi määriteltiin koko matriisi, ja epätäydelliseksi yksittäisen analyysin eri kerroilla lasketut komponentit. Ensikkolaktaatioista laskettuja varianssikomponentteja käytettiin kovarianssifunktioiden varianssiparametrien määrittelyyn. Todettiin, että viisitekkijäisellä polynomisella kovarianssifunktiolla voidaan tyydyttävästi määrittellä koko lypsykauden aikainen päivätuotosten varianssi-kovarianssirakenne kolmelle tuotanto-ominaisuudelle. Tämä tehdään sekä lehmäkohtaiselle pysyvälle ympäristövaikutusfunktioille, että eläinten jalostusarvofunktiolle. Kovarianssifunktioiden kautta saatuja regressiomuuttujia ja niitä vastaavien kertoimien kovarianssimatriiseja käytettiin hyvällä menestyksellä arvosteltaessa ensikkolehmien koelypsykohtaiset maito-, valkuais- ja rasvatuotosten jalostusarvot valtakunnallisesta aineistosta.

Tietokoneohjelmisto koelypsymallin ja eläinten jatkuvasti päivittyvien jalostusarvojen ratkaisemiseen

Koelypsymalli-hankkeelle asetettiin alun perin kaksi tärkeää tavoitetta: kehittää yksityiskohtaisempi malli, jolla kuvattaisiin yksittäisiä koelypsyhavaintoja, eikä näiden summaa ja yksittäisten koelypsytulosten perusteella laskettujen koelypsyindeksien päivittäminen reaaliajassa. Nämä tavoitteet edellyttävät erittäin tehokasta tietojenkäsittelyjärjestelmää ja hyvin optimoitua jalostusarvosteluohjelmaa. Ensimmäisten arvioiden mukaan arvosteluissa olevien jalostusarvoyhtälöiden määrän lisääntyminen olisi johtanut noin kymmenkertaisiin työtiedostoihin ja jopa 50–100 kertaa pidempään laskenta-aikaan kuin nykyisellä 305 päivän mallilla. Tällöin kolmen tuotantominaisuuden ratkaisemiseen tarvittava laskenta-aika olisi ollut yli kuukauden. Tätä silmällä pitäen erääksi tärkeimmistä tavoitteista oli otettava tarvittavan laskentaohjelmiston kehittäminen.

Projektin alkuvaiheessa kehityksen lähtökohdiksi oli käytettävissä kaksi tehokasta BLUP-ohjelmistoa jalostusarvostelujen ratkaisemiseen. Toinen oli Suomen eläinmalliarvosteluissa käytettävä MSOR-ohjelmisto, ja toinen vapaasti levitettävä tanskalainen DMU5-ohjelmisto. MSOR-ohjelmisto sisältää pitkälle optimoidun suoraan aineistosta iteroivan ratkaisu-algoritmin. Sen laajentaminen monen ominaisuuden SR-malliksi olisi ollut hyvin vaikeaa. DMU5-ohjelmisto on huomattavasti yleisempi mahdollistaen erilaisten, mm. monen ominaisuuden mallien ratkaisemisen. Sen ongelmana on yleisyydestä johtuva suuri laskentatehon ja työtilan tarve. Tavoitteeksi otettiin kehittää täysin uusi ohjelma, joka olisi yleinen ja muunneltavissa kuten DMU5, mutta las-

kentateholtaan kilpailisi erityistarkoitukseen räätälöityjen ohjelmien, kuten MSOR, kanssa. Ohjelmakehityksen rungoiksi otettiin yleinen malli DMU5-ohjelmasta.

Ohjelmakehitys aloitettiin siirtämällä perusohjelma Fortran 77 -ohjelmointikielestä uudelle Fortran 90 -kielelle. Tämä mahdollistaa mm. dynaamisen muistinhallinnan sekä oliopohjaisen kehitystyön. Seuraavaksi lisättiin ohjelman mallivaihtoehtoihin SR-mallit. Jotta ratkaisuohjelma ei asettaisi rajoituksia samaan aikaan tapahtuneelle SR-mallin kehitystyölle, muutos tehtiin mahdollisimman yleisellä tasolla. Näin säilytettiin mahdollisuus ajaa niin tavallisia monen ominaisuuden malleja, eli toistensa kanssa korreloituneita ominaisuuksia samanaikaisesti, kuin monen ominaisuuden SR-mallejakin.

Seuraavaksi keskityttiin ohjelman työtiedostojen ja käyttömuistin tarpeen pienentämiseen. Vaikka tietokoneen levykapasiteetin hinta on nopeasti laskenut, kannattaa työtiedostojen koko minimoida, koska suurten tiedostojen lukeminen lisää iteraatio-kierrosta kohti tarvittavaa aikaa. Poistamalla kaikki kerrannaisinformaatio työtiedostoista saatiin levytilan tarve pienemään kolmannekseen aikaisemmasta. Työtiedostojen pieneminen mahdollisti sen, että yhä suurempi osa jatkuvasti sisään luettavista aineistoista voidaan puskuroida koneen keskusmuistissa.

Lopuksi keskityttiin ohjelmakoodin tehokkuuden optimointiin. Optimoitu laskenta-algoritmi lyhensi huomattavasti iteraatio-kierrosta kohti tarvittavien laskutoimitusten määrää. Tässä vaiheessa DMUIOD:ksi (IOD = Iteration on Data) nimetyn satunnaisregressio BLUP-ohjelman suoritus aika oli tavallisella monen ominaisuuden mallilla vain 40 % siitä, mitä olisi tarvittu alkuperäistä DMU5-ohjelmistoa käyttäen (Lidauer et al. 1998). Tutkimustyö kuitenkin osoitti, että tämän enempää aikaa on vaikeaa lyhentää, koska erityisesti SR-kertoimia sisältävien mallien ratkeamisnopeus oli hidasta ja näytti edellyttävän ratketakseen jopa 300–700 iteraatio-kierrosta. Tästä pääteltiin, että käytettävät

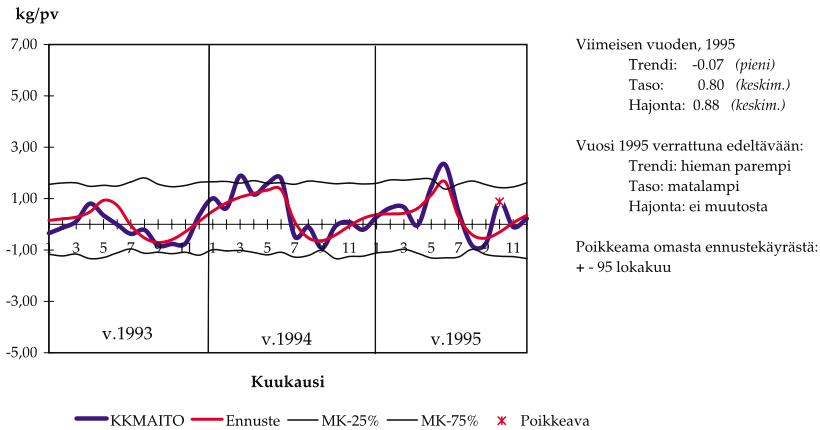
iteraatio-algoritmit eivät ehkä enää ole riittävän tehokkaita näin monimutkaisille malleille.

Ohjelmiston kehitystyötä jatkettiin DMUIOD-hankeen jälkeen yhteistyössä eläinravostelujen rinnakkaislaskentasovellutuksia tutkivan HPBREEDING-projektin kanssa. Rinnakkaislaskennan ja koelypsymallin tavoitteet havaittiin yhteneviksi, koska molemmissa ongelman jakaminen pieniin toisistaan mahdollisimman riippumattomiin osiin on hyödyllistä. Rinnakkaislaskennassa se vähentää eri prosessorien välistä kommunikaatiota, ja koelypsymallissa se mahdollistaa erillisten osien ratkaisemisen erikseen. Jälkimmäinen on edellytys toimivalle reaaliaikaiselle arvostelulle, jossa yksittäisen tilan arvostelut voitaisiin ratkaista yksinään. HPBREEDING-projektin aikana koelypsymallia varten kehitetty ohjelma kirjoitettiin toimimaan kokonaan uudella iterointi-algoritmilla. Tässä käytettiin pohjustettua liittogradienttimenetelmää (Preconditioned Conjugate Gradient, PCG). Pitkällisen optimointityön jälkeen PCG todettiin hyödylliseksi paitsi rinnakkaistettavuutensa, myös ratkeamisnopeutensa vuoksi. Esimerkkiaineistoista ajetuissa testeissä PCG-algoritmillä saavutettiin sama tarkkuus ratkaisussa jo puolella siitä iteraatioiden määrästä, joka tarvittiin DMUIOD-ohjelmassa. Lisäksi iteraatio-kierrosta kohti tarvittava aika on PCG:llä lyhyempi niin, että kokonaissuoritus-aika oli vain 14 % siitä, mitä DMUIOD tarvitsi ratkaisuun.

HPBREEDING- ja koelypsyprojektin tuloksena kehitetyn jalostusarvosteluohjelman laskentateho näyttää riittävän jo arvostelujen päivittäiseen laskentaan. Kun kauden mittainen laskenta-aika voidaan tehdä yhdellä prosessorilla noin kolmessa vuorokaudessa, saadaan se tehtyä esimerkiksi Maatalouden Laskentakeskuksen 4-proessorisessa laskentatyöasemassa jo alle vuorokaudessa.

Koelypsykohtaisten mittausten käyttö lypsykarjatilan tuotannon ohjauksessa

Karjatekijäratkaisujen analysoinnissa työ aloitettiin vuositasen vaikutusten mallintamisesta. Ruokinnallisten tekijöiden vaikutusta karjatekijäratkaisuihin tutkittiin monimuuttujamalleilla, joissa selittävinä tekijöinä olivat maaseutukeskus, rehuyksikkösaanti, väkirehutaso, rehuannoksen valkuaispitoisuus ja väkirehun viljapitoisuus ja/tai väkirehun täysrehupitoisuus. Lisäksi tutkittiin väkirehuruokinnan tason vaikutusta suoraan karjan keskituotokseen sekä yli eri ruokintaluokkien että erikseen eri väkirehutasojen sisällä. Tuloksien perusteella näyttää siltä, että väkirehun viljaosuuden kasvaessa karjassa saavutettu tuotos alkaa jäädä ennustettua pienemmäksi, ja lisämallien avulla tämä vaikutus jäljitettiin väkirehuseoksen liian pienen valkuaispitoisuuden aiheuttamaksi (Kaustell et al. 1998). Monipuolisemman hiilihydraattikoostumuksen omaavien täysrehujen positiivinen vaikutus tuotokseen oli tilastollisesti merkitsevä, mutta ei käytännössä kovin järjestyttävä. Väki-rehutyypin täysi muutos, eli täydellinen siirtyminen kotoisesta viljapohjaisesta väkirehusta täysrehuun vaikutti tuotokseen vain noin 170 kiloa/lehmä/vuosi. Väki-rehulisän antama tuotantovaikutus keskituotosta kuvaavassa mallissa oli vain puolet teoreettisesti ennustettavasta, mutta toisaalta tuhdisti isompi kuin ruokintakokeissa saavutettava. Tämän katsottiin johtuvan tuotosten mukaisen ruokinnan "tuotos – väkirehuannos" -seuraussuhteesta, mikä monilla tiloilla on ruokintakoetuloksia korostempaa, kun säilörehua ei riitä vapaasti ruokittavaksi.



Kuva 2. Esimerkkikarjan koelypsykuukausikohtaiset ratkaisut 1993–95 ja niistä piirretty graafinen diagnoosi.

Ensimmäiset kartoitukset karjan koelypsykuukausi ratkaisujen käyttökelpoisuudesta saatiin analysoimalla logaritmisella polynomimallilla ensikkolaktaatioista laskettuja koelypsykuukausituloksia. Kuu-kausivaikutusten karjakeskiarvojen todettiin antavan samanlaisia arvoja vuositason ratkaisujen kanssa. Todettiin, että merkittävästi poikkeavien kuukausiratkaisujen tunnistaminen edellyttää tilan sisäisen kausivaihtelun mallintamista. Tässä testattiin sekä muuttuvajaksoista regressiomallia että vuosisykliin perustuvien sinikäyrien yhdistelmää (Kaustell 1988).

Karjojen kuukausiratkaisujen käyttö karjojen tuotannonohjauksessa eteni vaiheeseen, jossa valmiin sovellutuksen perusmallia päästään testaamaan käytännön tiloilla. Perusmalli perustuu graafiseen diagnoosiin, joka kuvaa kyseisen karjan kuukausivaihtelua, siinä nähtyä pitkäaikaistrendiä, karjan omaa kausivaihtelua, ja poikkeamia ennustetusta (Kuva 2). Ennustetun kausivaihtelun kuvaamiseen käytettiin vuosittain toistuvia sinikäyriä, ja niihin sovitettavia satunnaisregressio malleja. Ensimmäiset graafiset diagnoosit on tuotettu poimimalla yksittäin karjojen kuukausittaiset ratkaisut. Tulevassa kehitystyössä pyritään verkkosovellutukseen, jossa graafinen diagnoosi voidaan laskea mille tahansa kar-

jalle ja valmiit, jatkuvasti päivitettävän jalostusarvostelun tuottamat kuukausiratkaisut voidaan lukea tätä varten rakennetusta tietokannasta.

Johtopäätöksiä ja yhteenveto hankkeen tuloksista

Hankkeessa edettiin vaiheeseen, jossa ensikkolehmien jalostusarvot voidaan laskea koelypsykohtaisia mittauksia käyttäen viikoittain tai jopa päivittäin. Parhaimmaksi tilastolliseksi malliksi todettiin monen ominaisuuden malli:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ y_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} ikä_1 \\ ikä_2 \\ ikä_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} tv_1 \\ tv_2 \\ tv_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} vkk_1 \\ vkk_2 \\ vkk_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \sum_{d=1}^s x^{*d} b_1^d \\ \sum_{d=1}^s x^{*d} b_2^d \\ \sum_{d=1}^s x^{*d} b_3^d \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} (karja * v)_1 \\ (karja * v)_2 \\ (karja * v)_3 \end{bmatrix} \\ + \begin{bmatrix} (karja * vkk)_1 \\ (karja * vkk)_2 \\ (karja * vkk)_3 \end{bmatrix} + \sum_{d=1}^s \Phi_1^d \begin{bmatrix} \Psi_1^d \\ \Psi_2^d \\ \Psi_3^d \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p^d \\ a^d \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} jäännös_1 \\ jäännös_2 \\ jäännös_3 \end{bmatrix},$$

jossa y_1 , y_2 ja y_3 ovat havainnot päivittäisistä maito-, valkuais- ja rasvatuotoksista; $ikä_t$, tv_t , vkk_t , ja $karja * v_t$ ovat

vastaavasti poikimaikä, tiineyden vaiheen vaikutus, koelypsyvuosi-kuukausi ja poikimakarja-vuosi vaikutukset erikseen ominaisuuksille $t = 1, 2, 3$. Regressio-kertoimet b^1_t , b^2_t , b^3_t ja b^4_t ovat kiinteät poikimavuodenaikakohtaiset regressio-kertoimet ominaisuuksittain, ja x^{*d} ovat niitä vastaavat havaintokohtaiset regressiomuuttujat, esim. dim , dim^2 , $\log(\text{dim})$ ja $\log^2(\text{dim})$. Mallin satunnaistekijät ovat: $\text{karja} * \text{vkk}_t$, eli karjakohtaiset koelypsykuukausivaikutukset; sekä p^d ja a^d ovat eläinkohtaista pysyvää ympäristöä ja jalostusarvoja kuvaavat satunnaisregressio-kertoimet sekä Φ_t^d ja Ψ_t^d ovat näitä vastaavat ominaisuuskohtaiset kertoimet ($d = 1, \dots, 5$).

Myöhempien lypsykausien koelypsyjen lisääminen on tehtävissä lisäämällä niitä varten asianmukaiset ikävaikutustekijät sekä tarvittavat yhdysvaikutukset. Myöhemmät lypsykaudet tullaan käsittelemään eri ominaisuuksina, jolloin tarvittavat jalostusarvokertoimet saadaan lisäämällä sekä pysyviä ympäristötekijöitä että jalostusar-

voja kuvaaviin SR-funktioihin toiset 5 tekijää per eläin.

Koelypsymallin ratkaisemiseksi kehitetty tietokoneohjelmisto pystyy ratkaisemaan jopa 20 eläinkohtaista tekijää sisältävän yhtälöryhmän hyväksyttävässä laskenta-ajassa. Mikäli arvostelujen laskenta tehdään päivittäin, on uuden tiedon kertymä niin pieni, että järjestelmän voidaan odottaa ratkeavan muutamalla iteraatiolla. Jatkuvasti päivitettävien arvostelujen suurin pulonkaula saattaakin olla uuden tarkkailutiedon päivittäminen arvostelutietokantaan sekä myös uusien eläinarvostelujen ja kuukausiratkaisujen jatkokäytön automatisointi.

Mallin myötä saatavat kuukausiratkaisut havaittiin havainnollisiksi ja käyttökelpoisiksi työkaluiksi lypsykarjojen tuotannon ohjaukseen. Niiden käyttöä havainnollistamaan kehitetty graafinen diagnoosi tulee toimimaan ensimmäisenä sovellutuksena kuukausikohtaisen tarkkailuaineiston käytöstä tuotannon seurannassa ja hallinnassa.

Kirjallisuus

Everett, R.W. & Schmitz, F. 1994. Dairy Genetics in 1994 and beyond. Cow and sire evaluation using test day records. Dairy Gene, and Dairy View for Dairy Farm Management. Cornell Cooperative Extension, Mimeo no: 170.

Kaustell, K. 1998. Karjantarkkailun koelypsytulosten hyödyntäminen lypsykarjatilain päätösten teossa. Maaseutukeskusten Liiton julkaisuja 924, Helsinki: Maaseutukeskusten liitto. p. 35–38

–, **Mäntysaari, E.A. & Huhtanen, P.** 1998. Concentrate feeding and milk yields based on field data of milk recorded herds. Agricultural and Food Science in Finland 7: 423–436.

Kettunen, A. & Mäntysaari, E.A. 1996. Estimation of genetic parameters for test-day milk production at different stages of lactation of Finnish Ayrshire heifers. Agricultural and Food Science in Finland 5: 185–192.

–, **Mäntysaari, E.A., Strandén, I. & Pösö, J.** 1997. Genetic parameters for test day milk yields of Finnish Ayrshires with random regression model. Journal of Dairy Science 80 (Supplement): 197.

–, **Mäntysaari, E.A., Strandén, I., Pösö, J. & Lidauer, M.** 1998. Estimation of genetic parameters for first lactation test day milk production using random regression models. In: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, NSW, Australia, January 11-16, 1998. 23: 307–310.

Lidauer, M., Mäntysaari, E.A., Strandén, I., Kettunen, A. & Pösö, J. 1998. DMUIOD: a multitrait blup program suitable for random regression test day models. In: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, NSW, Australia, January 11-16, 1998. 27: 463–464.

Lohuis, M.M., Dekkers, J.C.M., Smith, C. & Schaeffer, L.R. 1993. The effect of continuous evaluation on genetic response in progeny test programs. In: Proceedings of Symposium on Continuous Evaluation in dairy cattle, Maryland, USA, 1993. p. 2–17.

Ptak, E. & Schaeffer, L.R. 1993. Use of test day yields for genetic evaluation of dairy sires and cows. *Livestock Production Science* 34: 23–34.

Pösö, J., Mäntysaari, E.A., Lidauer, M., Strandén, I. & Kettunen, A. 1998. Empirical bias in the pedigree indices of heifers evaluated using test day models. In: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, NSW, Australia, January 11-16, 1998. 23: 339–342.

–, **Mäntysaari, E.A. & Kettunen, A.** 1999. Estimation of genetic parameters for test-day somatic cell score and production for Finnish Ayrshire with a simple repeatability model. *Journal of Agricultural and Food Science*. (Submitted)

Reents, R., Jamrozik, J., Schaeffer, L.R., & Dekkers, J.C.M. 1995. Estimation of genetic parameters for test day records of somatic cell score. *Journal of Dairy Science* 78: 2847–2857.

Schaeffer, L.R. & Dekkers, J.C.M. 1994. Random regressions in animal models for test-day production in dairy cattle. In: Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Guelph, Canada, 1994. 18: 443–446.

Lypsylehmien maidon koostumuksen ja laadun sekä juoksettumisominaisuuksien geneettinen parantaminen

Matti Ojala¹⁾, Tiina Ikonen¹⁾ & Outi Ruottinen¹⁾

¹⁾*Helsingin yliopisto, Kotieläintieteen laitos, PL 28, 00014 Helsinki*

Tutkimushankkeen tavoitteena oli selvittää keinoja, joiden avulla maidon juoksettumisominaisuuksia voidaan geneettisesti parantaa juustonvalmistukseen paremmin soveltuviksi. Hankkeen lähtöajatuksena oli, että juoksettumisominaisuuksien parantamisessa voidaan hyödyntää maidon valkuaisaineiden genotyyppejä. Tutkimuksen toteuttamiseksi määritettiin maidon valkuaisaineiden genotyypit noin 20 000 ayrshirelehmältä sekä maidon juoksettumisominaisuudet noin 1000 ayrshire- tai friisiläislehmältä.

Genotyyppiaineiston avulla on selvitetty maidon valkuaisaineiden eri genotyyppien ja alleelien yleisyys sekä genotyyppien yhteydet lypsylehmien maidontuotantominaisuuksiin. κ -kaseiinin B-alleeli on harvinainen ja E-alleeli suhteellisen yleinen Suomen ayrshirepopulaatiossa. β -kaseiinin A₂-alleeli on yhteydessä korkeaan maito- ja valkuaisuutuokseen ja A₁-alleeli suureen

maidon rasvapitoisuuteen. κ -kaseiinin B-alleeli on yhteydessä suureen valkuaispitoisuuteen ja hyvään maidon juoksettumiskykyyn sekä E-alleeli maidon heikkoon juoksettumiskykyyn ja pieneen valkuaispitoisuuteen. β -laktoglobuliinin A-alleeli on yhteydessä korkeaan valkuaisuutuokseen ja B-alleeli suureen rasvapitoisuuteen.

Maidon juoksettumisominaisuudet ovat kohtalaisen hyvin periytyviä ominaisuuksia, joten niitä voidaan parantaa jalostusvalinnan avulla. Ayrshirepopulaatiossa 8 % lehmistä tuottaa juoksettumatonta maitoa. Geneettisillä tekijöillä näyttää olevan yhteys maidon juoksettumattomuuteen. Maidon juoksettumisominaisuuksilla todettiin olevan selkeä vaikutus juustontuotantoon. Hyvin juoksettuvasta maidosta saatiin suurempi juustosaalis, ja juuston kokonaiskuiva-ainepitoisuus oli suurempi kuin huonosti juoksettuvasta maidosta tehdyssä juustossa.

Avainsanat: genotyypit, juoksettuminen, lypsylehmät, maito, maidon koostumus, periytymisaste, toistumiskerroin, valkuaisaineet

Johdanto

Suomessa tuotetusta maidosta huomattava osa, noin 40 %, käytetään juustontuotantoon (Maatalousalan Tiedotuskeskus 1996). Tuotetun juuston määrä on lisääntynyt viimeisen 15 vuoden aikana 76 miljoonasta kilosta 96 miljoonaan kiloon eli noin 25 % (Maatalousalan Tiedotuskeskus 1996). Huolimatta juustontuotannon selvästä lisääntymisestä ei juustonvalmistuksessa käytettävän maidon juoksettumisominaisuuksiin ole kiinnitetty huomiota. Juustonvalmistukseen käytetään koostumukseltaan ja juoksettumisominaisuuksiltaan samanlaista maitoa kuin nestemäisiin maitovalmisteisiin ja kulutusmaitoon.

Juoksettumisominaisuuksien kehittäminen jalostusvalinnan avulla on hyvin perusteltua, sillä Suomessa tuotetun maidon keskimääräinen juoksettumiskyky on viime vuosina huonontunut ja sen käyttökelpoisuus juustonvalmistuksessa siten heikentynyt. Käytettävissä olevan kirjallisuuden perusteella maidon valkuaisaineista κ -kaseiiniin B-alleeli on yhteydessä maidon hyvään juoksettumiskykyyn sekä suuriin valkuaisaine-, kaseiini- ja κ -kaseiinipitoisuuksiin (esim. Schaar 1984, Aaltonen & Antila 1987, Ikonen 1993).

Mikäli yhdessä tai muutamissa lokuksissa sijaitsevia geenejä tai genotyyppejä halutaan käyttää eläinten valinnassa, on tiedettävä niiden yhteydet lypsykarjan kaikkiin taloudellisesti tärkeisiin ominaisuuksiin: maidontuotanto-ominaisuuksiin, hedelmällisyys- ja terveysominaisuuksiin sekä eläinten kokoon ja rakenteeseen. Maidon valkuaisaineiden geenien vaikutuksesta mainittuihin ominaisuuksiin on kirjallisuudessa joko ristiriitaista tutkimustietoa (esim. Ng-Kwai-Hang et al. 1984, Van Eenennaam & Medrano 1991, Bovenhuis et al. 1992, Mao et al. 1992) tai luotettava, riittävän suuriin aineistoihin perustuva tutkimustieto puuttuu.

Tämän tutkimushankkeen tavoitteena oli selvittää keinoja, joiden avulla maidon juoksettumisominaisuuksia ja koostumusta

voidaan geneettisesti parantaa juustonvalmistukseen paremmin soveltuviksi. Hankkeen lähtöajatuksena oli, että edellä mainittujen ominaisuuksien jalostamisessa voidaan hyödyntää maidon valkuaisaineiden, α_{s1} -, α_{s2} -, β - ja κ -kaseiinit sekä β -laktoglobuliini, genotyyppejä.

Tässä kirjoituksessa esitetään lyhyt katsaus vuosina 1994–1996 maa- ja metsätalousministeriön rahoittaman tutkimushankkeen ”Lypsylehmien maidon koostumuksen ja laadun sekä juoksettumisominaisuuksien geneettinen parantaminen” tuloksiin (Ikonen & Ojala 1995a) sekä sitä vuonna 1997 seuranneen hankkeen ”Lypsylehmien maidon juoksettumisominaisuuksien jalostamismahdollisuudet” tuloksiin.

Aineistot

Tutkimushankkeen aikana kerättiin kolme laajaa aineistoa, joiden ohella tutkimuksessa käytettiin myös useita erillisiä osa-aineistoja. Hankkeessa määritettiin maidon valkuaisaineiden genotyypit laajasta, noin 20 000 ayrshirelehmän otoksesta Pohjois-Savon alueella. Maidon juoksettumisominaisuudet määritettiin kerran noin 1000 ayrshire- tai friisiläislehmältä Uudeltamaalla. Helsingin yliopiston Viikin tutkimustilan yhteensä noin 90 ayrshirelehmän maidon juoksettumisominaisuudet määritettiin kuukausittain kahden vuoden ajan.

Tulokset

Maidon valkuaisaineiden genotyypit

Maidon valkuaisaineiden genotyyppiaineiston avulla on selvitetty maidon valkuaisaineiden eri genotyyppien ja alleelien yleisyys sekä genotyyppien yhteydet lypsylehmien maidontuotanto- ja hedelmällisyysominaisuuksiin.

Maidon valkuaisaineiden genotyyppi- ja alleelifrekvenssit Suomen ayrshirepopulaatiossa

Noin 20 000 ayrshirelehmän genotyyppiaineiston perusteella tiedetään, että κ -kaseiinin B-alleeli on harvinainen ja E-alleeli suhteellisen yleinen Suomen ayrshirepopulaatiossa (Ikonen et al. 1996). Aineistosta havaittiin myös uusi κ -kaseiinin alleeli (Ikonen et al. 1996, Prinzenberg et al. 1996a, b). Keskimääräisen lehmäpopulaation ja sonninemien välillä on eroa β - ja κ -kaseiinien genotyyppi- ja alleelifrekvensseissä (Ruottinen 1997, Ruottinen et al. 1997b). Tämä johtune osittain sonninemien kohdistuneesta voimakkaasta maidontuotanto-ominaisuuksien jalostusvalinnasta. Koska kaseiinien geenit sijaitsevat erittäin lähellä toisiaan kromosomissa 6, ne ovat tiukasti toisiinsa kytkeytyneitä. Tämä voi rajoittaa valintaa kaseiinien genotyyppien tai alleelien suhteen.

Maidon valkuaisaineiden genotyyppien yhteys maidontuotanto- ja hedelmällisyysominaisuuksiin

β -kaseiinin A_2 -alleeli on yhteydessä korkeaan maito- ja valkuaisuutuokseen, β -kaseiinin A_1 -alleeli suureen maidon rasvapitoisuuteen sekä κ -kaseiinin B-alleeli suureen ja E-alleeli piententyneeseen maidon valkuaispitoisuuteen (Ruottinen et al. 1996, Ojala et al. 1997, Ikonen et al. 1997a, b, 1998a, 1999b). β -laktoglobuliinin A-alleeli on yhteydessä korkeaan valkuaisuutuokseen ja B-alleeli suureen rasvapitoisuuteen. Kaseiinilokusten välisen kytkentäepätasapainon vuoksi κ -kaseiinin B-alleeli esiintyy lehmillä pääasiassa β -kaseiinin A_1 -alleelin kanssa, jolla on epäedullinen vaikutus maito- ja valkuaisuutuoksiin. Tämän vuoksi pelkän κ -kaseiinin B-alleelin suosiminen vaikuttaisi todennäköisesti epäedullisesti maito- ja valkuaisuutuoksiin. Maito- ja valkuaisuutuoksiin sekä juoksettumisominaisuuksiin edullisessa yhteydessä olevan β - ja κ -kaseiinien al-

leliyhdistelmän A_2B pieni frekvenssi ayrshirellä voi rajoittaa tämän yhdistelmän suosimista jalostuseläinten valinnassa. Maidon valkuaisaineiden genotyypeillä ei todettu olevan yhteyttä hieho- eikä ensikkohedelmällisyyteen (Ruottinen et al. 1998).

Maidon juoksettumisominaisuudet

Hankkeen aikana kerättyjen maidon juoksettumisaineistojen avulla selvitettiin maidon juoksettumisominaisuuksiin vaikuttavia ympäristötekijöitä ja geneettisiä tekijöitä sekä juoksettumisominaisuuksien toistuvuutta ja periytyvyyttä.

Maidon juoksettumisominaisuuksien periytyvyys

Maidon juoksettumisominaisuudet ovat parhaimpia kesällä sekä lehmien lypsykauden alku- ja loppuvaiheissa. Maidon juoksettumisominaisuuksissa todettiin huomattavaa vaihtelua tilojen välillä (Ikonen & Sternberg 1995). Lehmiltä eri lypsykauden vaiheissa otettujen maitonäytteiden juoksettumiskyvyssä todettiin huomattavaa vaihtelua, joten yhden maitonäytteen perusteella ei kyetä päättelemään luotettavasti, miten hyvin yksittäisen lehmän maito juoksettuu (Kempe 1997, Tyrisevä 1999). Maidon juoksettumisominaisuudet ovat kohtalaisen hyvin toistuvia ja periytyviä ominaisuuksia, toistumiskerroin noin 0,60 ja periytymisaste noin 0,30, joten niitä voidaan parantaa jalostusvalinnan avulla (Ikonen 1996, Ahlfors 1997, Ikonen et al. 1999a). κ -kaseiinin B-alleelilla on edullinen vaikutus maidon juoksettumisominaisuuksiin, kun taas E-alleelin vaikutus on epäedullinen (Ikonen & Ojala 1995b, Ikonen et al. 1995, 1997c, 1999a). Aineiston rajallisen koon vuoksi maidon juoksettumisominaisuuksien sekä maidontuotanto-ominaisuuksien välisiä geneettisiä yhteyksiä ei voinut arvioida luotettavasti.

Maidon juoksettumattomuus

Noin 8 % ayrshirepopulaation lehmistä tuottaa juoksettumatonta maitoa (Ikonen & Sternberg 1995, Ahlfors 1997, Ikonen et al. 1997c). Maidon juoksettumattomuudesta ei ole tässä laajuudessa havaintoja muista kotimaisista tai ulkomaisista lypsyroduista. Geneettisillä tekijöillä näyttää olevan yhteyttä maidon juoksettumattomuuteen (Ikonen et al. 1999a). Juoksettumisaineistosta valikoidun osa-aineiston avulla pyrittiin kartoittamaan maidon juoksettumattomuuteen vaikuttavia geenialueita kromosomista 6. Aineiston pienuuden ja vähäisen markkeri-informaation vuoksi selkeitä viitteitä geenialueista ei löydetty (Säisä 1999).

Maidon juoksettumiskyvyn vaikutus juustonvalmistukseen

Neljästä karjasta (yhteensä 45 lehmää) kerätystä erittäin huonosti juoksettuvasta maidosta sekä neljästä muusta karjasta (yhteensä 65 lehmää) kerätystä kohtalaisen hyvin juoksettuvasta maidosta valmistettiin neljä juustoa (750 l maitoa/juusto) Valio Oy:n koejuustolassa. Karjat ovat Alueosuuskunta Promilkin maidonhankinta-alueelta. Maidon juoksettumisominaisuuksilla oli selkeä vaikutus juustontuotantoon (Ikonen et al. 1997d). Kohtalaisen hyvin juoksettuvasta maidosta saatiin suurempi juustosaalis, ja juuston kokonaiskuiva-aine-, rasva-, tuhka-, kalsium- ja fosforipitoisuudet olivat suuremmat kuin huonosti juoksettuvasta maidosta tehdyn juuston. Kohtalaisen hyvin juoksettuvaa maitoa tuottavissa karjoissa κ -kaseiinin B-, β -kaseiinin A₁- ja α _{s1}-kaseiinin C-alleelit olivat yleisempiä kuin huonosti juoksettuvaa maitoa tuottavissa karjoissa. Kohtalaisen hyvin juoksettuvaa maitoa tuottavissa karjoissa oli lisäksi suhteellisesti enemmän früsiläislehmiä kuin ayrshirelehmiä. Maidon valkuaisaineiden genotyyppifrekvenssit ja rotujauma eivät olleet tiedossa karjoja valittaessa.

Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset

Maidon juoksettumisominaisuuksia voidaan parantaa valitsemalla eläimiä kyseisen ominaisuuden perusteella, sillä juoksettumisominaisuuksien periytymisasteen arviot ovat suurinpiirtein yhtäsuuria kuin esimerkiksi maitotuotoksen. Koska tällä hetkellä ei ole käytössä laitteistoa, jonka avulla maidon juoksettumisominaisuudet voidaan määrittää rutiinitoimenpiteenä koko lehmäpopulaatiosta, on ominaisuuksien parantaminen mahdollista ainoastaan epäsuorasti. Tämä voi tapahtua jalostamalla ominaisuuksia, jotka ovat suotuisassa yhteydessä juoksettumisominaisuuksiin, kuten maidon valkuaisaine- tai kaseiinipitoisuus. Kaseiinipitoisuuden määrittämiseksi on viime aikoina kehitetty menetelmä ja laite, mutta Suomessa kaseiinipitoisuutta ei vielä määritetä rutiinisti osana karjantarkkailua. Lisäksi maidon juoksettumisominaisuuksien sekä maidontuotanto-ominaisuuksien välisistä geneettisistä korrelaatioista tarvitaan luotettavat arviot, ennen kuin epäsuoraa jalostustapaa on mahdollista käyttää.

Toinen epäsuora tapa on markkeriavusteinen valinta (MAS), jossa eläimiä valitaan sellaisten markkerien eli merkkigeenien suhteen, jotka ovat kytkeytyneet juoksettumisominaisuuksiin voimakkaasti vaikuttaviin geeneihin tai geenialueisiin (suurivaikutteiset geenit). κ -kaseiinin lokusta voidaan pitää suurivaikutteisena maidon juoksettumisominaisuuksien suhteen, sillä B-alleelin edullisesta vaikutuksesta juoksettumisominaisuuksiin on useita tutkimustuloksia eri lypsyroduilla. On myös mahdollista, että κ -kaseiinin lokus on erittäin tiiviisti kytkeytynyt juoksettumisominaisuuksien suhteen suurivaikutteisiin geeneihin. κ -kaseiinin B-alleeli on harvinainen suomalaisessa lypsykarjassa, joten B-alleelia suosimalla voitaisiin parantaa maidon juoksettumiskykyä ilman, että juoksettumisominaisuuksia tarvitsee määrittää. Maidon valku-

aisaineiden genotyypit voidaan tällä hetkellä määrittää helposti kaikenikäisiltä sekä kummankin sukupuolen eläimiltä, joten maidon valkuaisaineiden genotyyppi-informaatio olisi helposti käytettävissä keinosiemennyssonnien ja sonninemien valinnassa jo nyt. Kaseiinilokusten välisestä kytkentäepätasapainosta johtuen κ -kaseiinin B-alleeli esiintyy ayrshirellä useimmiten maitoja valkuaisuotoksien suhteen epäedullisen β -kaseiinin A_1 -alleelin kanssa. Sekä juoksettumisominaisuuksien että maito- ja valkuaisuotoksien suhteen edullinen β -kaseiinin A_2 -alleelin ja κ -kaseiinin B-alleelin yhdistelmä on harvinainen ayrshirellä. Edellä esitetyn perusteella κ -kaseiinin B-alleelin suosiminen olisi rajoitettua nykyisten, korkeaa maidon valkuaisuutosta suosivien jalostustavoitteiden vallitessa (Ruottinen et al. 1997a, Ikonen et al. 1998b, c).

Sen sijaan että jalostusvalinnassa suositaisiin hyvin juoksettuvaa maitoa tuottavia lehmiiä, voitaisiin maidon juoksettumiskykyä parantaa karsimalla erittäin huonosti juoksettuvaa tai juoksettumatonta maitoa tuottavia lehmiiä. Maidon juoksettumattomuuteen näyttää κ -kaseiini -lokuksen li-

säksi vaikuttavan joku muu geenialue tai muita geenialueita. Jos tällaiset geenialueet kyetään paikallistamaan markkerien avulla, olisi mahdollista karsia maidon juoksettumattomuutta aiheuttavia genejä perimäsään kantavia eläimiä.

Tutkimushankkeen yhteistyösapuolet

Tämän tutkimushankkeen tärkeimpiä kotimaisia yhteistyösapuoita ovat olleet: Valio Oy, Tutkimus & tuotekehitys -yksikkö; Alueosuuskunta Promilk; Maatalouden laskentakeskus Oy; Osuuskunta Kotieläinjalostuskeskus-FABA sekä Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus ja Kotieläintuotannon tutkimus. Tärkeimpiä ulkomaisia yhteistyökumppaneita ovat olleet: Justus-Liebig-Yliopisto, Eläintieteen ja kotieläinten jalostustieteen laitos, Saksa; Wageningenin Maatalousyliopisto, Kotieläintieteen laitos, Alankomaat sekä Kalifornian yliopisto, Kotieläintieteen laitos, Davis, USA.

Kirjallisuus

Aaltonen, M.-L. & Antila, V. 1987. Milk renneting properties and the genetic variants of proteins. *Milchwissenschaft* 42: 490–492.

Ahlfors, K. 1997. Maidon juoksettumisominaisuuksien perinnölliset tunnusluvut. Helsingin yliopiston kotieläintieteen laitoksen julkaisuja, No. 25. Helsinki: Helsingin yliopisto. 61 p. ISSN 1236-9837, ISBN 951-45-7817-1.

Bovenhuis, H., Arendonk, J.A.M. van & Korver, S. 1992. Associations between milk protein polymorphism and milk production traits. *Journal of Dairy Science* 75: 2549–2559.

Ikonen, T. 1993. Maidon valkuaisaineiden genotyyppien vaikutus maidon juoksettumisominaisuuksiin sekä koostumukseen. Kotieläinjalostuksen tie-

dote No 100. Helsinki: Helsingin yliopisto. 64 p. ISSN 0356-1429, ISBN 951-45-6403-0.

– 1996. Tehokkuutta juustontuotantoon. *Nauta* 4: 18.

–, **Ahlfors, K., Kempe, R., Ojala, M. & Ruottinen, O.** 1999a. Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of noncoagulating milk in Finnish dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82: 205–214.

–, **Bovenhuis, H., Ojala, M. & Ruottinen, O.** 1998a. Effects of casein haplotypes on first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. In: *Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Armidale, Australia, 11-16 January 1998. Armidale, Australia: Or-

ganising Committee, 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Vol. 25: 55-58. ISBN 1-86389-454-3.

– & **Ojala, M.** 1995a. Maidon juustoutumista parannetaan karjanjalostuksella. *Maito ja Me* 8: 14.

– & **Ojala, M.** 1995b. Effects of milk protein genotypes on milk renneting properties assuming alternative models. In: Implications of Genetic Polymorphism of Milk Proteins on Production and Processing of Milk. IDF-Bulletin 304: 16–17.

–, **Ojala, M. & Ruottinen, O.** 1997a. Effects of β - and κ -casein genotypes on first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. In: Milk protein polymorphism. Proceedings of the IDF Seminar, Palmerston North, New Zealand, 25.-27.2.1997. Brussels, Belgium: International Dairy Federation. p. 47–53. ISBN 92-9098-026-9.

–, **Ojala, M. & Ruottinen, O.** 1997b. Effects of composite β - κ -casein genotypes and β -lactoglobulin genotypes on first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. In: Book of abstracts of the 48th annual meeting of the European Association for Animal Production, Vienna, Austria, 25.-28. August 1997. No. 3. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Pers. p. 3. ISSN 1382-6077, ISBN 90-74134-44-0.

–, **Ojala, M. & Ruottinen, O.** 1999b. Associations between milk protein polymorphism and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. *Journal of Dairy Science* 82. (In press)

–, **Ojala, M., Ruottinen, O. & Syväoja, E.-L.** 1998b. Lypsylehmien maidon juoksettumiskyvyn jalostamismahdollisuudet. In: Maidon uudet sovellukset -ohjelman tutkimushankkeiden tiivistelmät. Kotieläintieteen päivät, Helsinki, 26.-27.5.1998. Helsinki: Helsingin yliopisto. p. 9–10.

–, **Ojala, M. & Syväoja, E.-L.** 1997c. Effects of composite casein genotypes and β -lactoglobulin genotypes on renneting properties and composition of bovine milk by assuming an animal model. *Agricultural and Food Science in Finland* 6: 283–294.

–, **Ruottinen, O., Ahlfors, K., Ojala, M., Syväoja, E.-L. & Säisä, M.** 1998c. Lypsylehmien maidon juoksettumiskyvyn jalostamismahdollisuudet. In: Kotieläintieteen päivät 1998. Maaseutukeskusten liiton julkaisuja no 924. Helsinki: Maaseutukeskusten Liitto. p. 163–165.

–, **Ruottinen, O., Ahlfors, K., Syväoja, E.-L. & Ojala, M.** 1997d. Maidon juoksettumiskyvyn yhteys juustontuotantoon. Maidon uudet sovellutukset MAIUS-seminaari, Oulun yliopisto, 23.5.1997. 2 p.

–, **Ruottinen, O., Erhardt, G. & Ojala, M.** 1996. Al-

lele frequencies of the major milk proteins in the Finnish Ayrshire and detection of a new κ -casein variant. *Animal Genetics* 27: 179–181.

– & **Sternberg, K.** 1995. Maidon juoksettumiskyvyssä on suuria eroja. *Maito ja Me* 10: 14.

–, **Syväoja, E.-L., Ojala, M. & Kempe, R.** 1995. Association of milk protein genotypes with technological properties of bovine milk. In: Proceedings of NJF - Seminar no.252, Milk in nutrition - effects of production and processing factors, Turku, Finland, 13.-15.1.1995. NJF-Report 102. Helsinki: Helsingin yliopistopaino. p. 55–66.

Kempe, R. 1997. Maidon koostumuksen vaikutus maidon juoksettumisominaisuuksiin. Helsingin yliopiston kotieläintieteen laitoksen julkaisuja, No. 27. Helsinki: Helsingin yliopisto. 58 p. ISSN 1236-9837, ISBN 951-45-7849-X.

Maatalousalan Tiedotuskeskus 1996. Tietovakka 1996. Helsinki: Maatalousalan Tiedotuskeskus. 32 p.

Mao, I.L., Buttazzoni, L.G. & Aleandri, R. 1992. Effects of polymorphic milk protein genes on milk yield and composition traits in Holstein cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science* 42: 1–7.

Ng-Kwai-Hang, K.F., Hayes, J.F., Moxley, J.E. & Monardes, H.G. 1984. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat and protein production by dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 67: 835–840.

Ojala, M., Famula, T.R. & Medrano, J.F. 1997. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey cows in California. *Journal of Dairy Science* 80: 1776–1785.

Prinzenberg, E.-M., Hiendleder, S., Ikonen, T. & Erhardt, G. 1996a. Molecular genetic characterization of new bovine κ -casein alleles CSN3^F and CSN3^G and genotyping by PCR-RFLP. *Animal Genetics* 27: 347–349.

–, **Hiendleder, S., Ruottinen, O. & Erhardt, G.** 1996b. Genotyping of six bovine κ -casein alleles including the two new alleles F and G. In: Proceedings of the 25th International Conference on Animal Genetics, Tours, France 21.-25. July 1996. *Animal Genetics* 27 (Suppl. 2): 24.

Ruottinen, O. 1997. Maidon valkuisaineiden geneettinen muuntelu suomalaisessa ayrshirepopulaatiossa. Helsingin yliopiston kotieläintieteen laitoksen julkaisuja, No. 24. Helsinki: Helsingin yliopisto. 58 p. ISSN 1236-9837, ISBN 951-45- 7816-3.

–, **Ikonen, T., Ahlfors, K., Syväoja, E.-L. & Ojala,**

- M.** 1997a. Maidon valkuaisaineiden genotyypit ja lypsykarjan jalostus. In: Kotieläintieteen päivät 1997. Maaseutukeskusten liiton julkaisuja no 914. Helsinki: Maaseutukeskusten Liitto. p. 19–23. ISSN 0789-9661, ISBN 951-808-054-2.
- , **Ikonen, T. & Ojala, M.** 1996. Associations of composite casein genotypes and β -lactoglobulin genotypes with breeding values for milk production traits in the Finnish Ayrshire cows. In: Book of abstracts of the 47th annual meeting of the European Association for Animal Production, Lillehammer, Norway 25.-29.8.1996. No. 2. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Pers. P. 41. ISSN 1382-6077, ISBN 90-74134-33-5.
- , **Ikonen, T. & Ojala, M.** 1997b. Milk protein polymorphism in samples of Finnish Ayrshire cows. In: Book of abstracts of the 48th annual meeting of the European Association for Animal Production, Vienna, Austria, 25.-28. August 1997. No. 3. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Pers. p. 5. ISSN 1382-6077, ISBN 90-74134-44-0.
- , **Ikonen, T. & Ojala, M.** 1998. Effects of milk protein genotypes on heifer and first lactation reproduction traits in the Finnish Ayrshire. In: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, Australia, 11-16 January 1998. Armidale, Australia: Organising Committee, 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Vol. 23: 443–446. ISBN 1-86389-454-3.
- Schaar, J.** 1984. Effects of κ -casein genetic variants and lactation number on the renneting properties of individual milks. *Journal of Dairy Research* 51: 397–406.
- Säisä, M.** 1999. Naudan kromosomista 6 määritettyjen markkereiden yhteys maidon juoksettumisominaisuuksiin. Helsingin yliopiston kotieläintieteen laitos. Pro gradu -työ. 44 p.
- Tyrisevä, A.-M.** 1999. Maidon juoksettumiskykyyn vaikuttavat tekijät ja juoksettumisominaisuuksien toistuvuus. Helsingin yliopiston kotieläintieteen laitos. Pro gradu -työ. 49 p.
- Van Eenennaam, A.L. & Medrano, J.F.** 1991. Milk protein polymorphism in California dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 74: 1730–1742.

Keskeisten alkutuotantotekijöiden ja prosessoinnin vaikutus maidon laatuun

Kevin Shingfield¹⁾, Seija Jaakkola¹⁾, Pekka Huhtanen¹⁾, Eero Pahkala²⁾,
Taina Lehdonkivi²⁾, Hannu Korhonen²⁾, Pirjo Salo-Väänänen³⁾
& Vieno Piironen³⁾

¹⁾ *Maatalouden tutkimuskeskus, Kotieläintuotannon tutkimus, 31600 Jokioinen*

²⁾ *Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen*

³⁾ *Helsingin yliopisto, Elintarvikekemian, PL 27, 00014 Helsingin yliopisto*

Hankkeessa selvitettiin keskeisimpien ruokinnallisten tekijöiden vaikutusta maidontuotantoon, maidon koostumukseen ja laatuun sekä juustoutumisominaisuuksiin. Lisäksi tutkittiin kuumennuskäsittelyjen vaikutusta maidon valkuaisen laatuun. Nurmirehun laadulla oli merkittävä suuri vaikutus rehun syöntiin, maidontuotantoon ja erityisesti maidon koostumukseen. Säilörehun käymisen rajoittaminen lisäsi rehun syöntiä, energiakorjattua maitotuotosta sekä maidon valkuais- ja rasvapitoisuutta verrattuna biologisesti säilöttyyn rehuun tai painorehuun. Biologisesti säilötty rehu antoi paremman tuloksen kuin painorehu, joka puolestaan oli useimpien tuotantoparametrien osalta vähintään yhtä hyvä kuin samasta kasvustosta viikkoa myöhemmin korjattu heinä. Maidon E-vitamiinipitoisuus oli säilörehulla tuotetussa maidossa kaksinkertainen. Myös β -karoteenin pitoisuus oli säilörehulla tuotetussa maidossa suurempi. Maidon makuun karkearehu ei vaikuttanut. Karkearehujen välillä oli merkittäviä eroja maidon rasvahappokoostumuksessa, joskin määrälliset erot olivat pieniä. Painorehua syötettäessä tarvittiin samaan maidon valkuaispitoisuuteen sekä

rasva- ja valkuaisuutokseen pääsemiseksi 3,6 kg/pv enemmän väkirehua kuin muura-haishapolla säilöttyä rehua syötettäessä.

Rehuvalkuaisen laatu vaikutti merkittävästi maitotuotokseen. Nurmen typpilannoituksen lisäämisellä saatu valkuainen ei lisännyt tuotosta lainkaan ja jopa ureaa hie-man huonomman tuloksen. Vehnäglutei-nilla saatiin parempi tulos kuin säilörehun lisävalkuaisella tai urealla, mutta selvästi huonompi kuin rypsipuristeella. Maidon juoksettumisaika lyhentyi ja juoksettuman kiintyes parani valkuaisrehuja, erityisesti rypsipuristetta käytettäessä. Juustosaaliissa tai juuston laadussa ei ruokintojen välillä ollut merkittäviä eroja, mutta runsaamman tuotoksen vuoksi tehostunut valkuaisruokinta lisäsi lehmäkohtaista juustosaalista. Maidon ureapitoisuus ei vaikuttanut aina-kaan negatiivisesti juustoutumiseen. Maidon ureapitoisuuden merkityksestä lehmi-en ravitsemuksessa ja vaikutuksesta hedelmällisyyteen julkaistaan kirjallisuustutkimukset. Rypsipuriste vähensi palmitiinihapon osuutta maitorasvassa ja lisäsi samalla steariini- ja öljyhappoa, vakseenihappoa (C18:0-trans) ja konjugoitunutta linolihappoa (CLA).

Avainsanat: juusto, käymislaatu, lypsylehmät, maidon tuotanto, rasvahapot, säilörehu, urea, valkuainen, vitamiinit, väkirehu

Johdanto

Maidon koostumustavoitteet ovat muuttuneet voimakkaasti kulutustottumusten muututtua suosimaan vähärasvaisia ja runsaasti valkuaista sisältäviä maitotuotteita. Tämä muutos on näkynyt myös maidon hinnoittelussa siten, että rasvan osuus maidon hinnasta on vähentynyt valkuaisen kustannuksella. Siten sekä tuottajille että jalostavalle teollisuudelle olisi edullista tuottaa runsaasti valkuaista sisältävää maitoa. Rasvan osalta tilanne on viime aikoina ollut vaihteleva. Rasva voidaan helposti erottaa maidosta ja valmistaa voiksi, mutta ongelmana on ollut vaihteleva hinta.

Suomessa maidontuotanto perustuu runsaaseen nurmisäilörehun käyttöön. Suomessa säilörehun valmistuksessa käytetään yleensä muurahaishappoon perustuvia säilöntäaineita, jolla pystytään varmistamaan rehun korkea hygieeninen laatu. Rajoittunut käyminen parantaa rehun valkuaisarvoa pitkälle käyneeseen rehuun verrattuna, mutta toisaalta johtaa pötsikäymiseen, joka lisää maidon rasvapitoisuutta. Glukoosin puute voi olla yksi rajoittuneesti käyneen puute pyrittäessä tehokkaaseen valkuais- tuotantoon. Tätä muutoin hyvän rehun ravitsemuksellista puutetta voidaan yrittää korjata täydennysruokinnan avulla.

Maidon sisältää ei-proteiinisia typpiyhdisteitä (NPN), joista urea on merkittävin. Maidon ureapitoisuutta voidaan käyttää valkuaisruokinnan indikaattorina, mutta sillä voi olla vaikutusta myös maidon juustoutumisominaisuuksiin ja juustosaaliiseen. Ruokinnallisten tekijöiden vaikutuksia maidon juustoutumisominaisuuksiin tunnetaan huonosti, vaikka niillä voi olla juuston valmistuksen kannalta merkittävä vaikutus. Valkuaisruokinnan optimoinnissa pitäisi ottaa huomioon tuotannon taloudellisuuden lisäksi vaikutukset maidon laadun ja prosessoitavuuden kannalta sekä ympäristövaikutukset.

Ruokinnallisten tekijöiden vaikutukset

maidon vitamiinipitoisuuteen ja rasvahappokoostumukseen tunnetaan huonosti lukuun ottamatta rehuannokseen lisätyn rasvan vaikutuksia. Samaten erilaisten prosessointien vaikutus maitotuotteiden ravitsemukselliseen arvoon tunnetaan huonosti. Kuumennuskäsittelyt saattavat tuottaa lisätä maidon furosiini- ja laktuloosipitoisuuksia. Näiden määrittämiseksi on tarpeen myös kehittää analyysimenetelmiä.

Tämän hankkeen tavoitteena oli selvittää ruokinnallisten tekijöiden vaikutusta ravintoaineiden hyväksikäyttöön sekä ruokinnallisten tekijöiden ja prosessoinnin vaikutusta maidon laatuun. Projektin alussa tehtiin kirjallisuustutkimus (Jokela et al. 1998). Projektissa olivat mukana Maatalouden tutkimuskeskuksen eläinravitsemuksen vastuualue ja elintarvikkeiden tutkimusyksikkö sekä Helsingin yliopiston soveltavan kemian laitos. Eläinravitsemuksen vastuualue vastasi tutkimuksen koordinoinnista, eläinkokeiden suunnittelusta ja toteutuksesta, eläinkokeisiin liittyvistä analyyseistä sekä tulosten tilastollisesta käsitteystä. Elintarvikkeiden tutkimusyksikkö vastasi maidon makuarvosteluista, maidon rasvahappojen ja vesiliukoisten vitamiinien analyyseistä, antioksidatiivisen kapasiteetin määrittämisestä sekä juuston valmistuksesta ja analysoinnista. Helsingin yliopiston soveltavan kemian laitoksen vastuulla oli maidon rasvaliukoisten vitamiinien analysointi, kuumennuskäsittelyjen vaikutusten selvittäminen maitotuotteisiin laatuun sekä tarvittavien analyysimenetelmien kehittäminen. Tässä artikkelissa tutkimukset raportoidaan kolmena osatutkimuksena, joista kaksi ensimmäistä käsittää eläinkokeet ja niihin suoraan liittyvät tutkimukset (MTT:n eläinravitsemus ja elintarvikkeiden tutkimus) kolmas osa Helsingin yliopiston osuuden. Yksityiskohtaisemmat tulokset on esitetty maa- ja metsätalousministeriölle tehdyssä raportissa. Tulokset tullaan julkaisemaan yksityiskohtaisesti tieteellisissä julkaisusarjoissa (osa jo julkaistu) ja soveltuvien osin neuvonnallisissa julkaisuissa.

Osatutkimus I

Nurmirehun ja täydennysruokinnan vaikutus maidon valkuaisen määrään ja laatuun sekä maidon muihin laatuominaisuuksiin

Johdanto ja tutkimuksen tavoitteet

Nurmirehun säilöntätapa (heinä vs. säilörehu) ja säilörehun käymistyyppi ja -aste vaikuttavat maitorauhasen käyttöön tuleviin ravintoaineisiin sekä määrällisesti että laadullisesti. Suomessa säilörehu valmistetaan yleensä käyttämällä kohtuullisen suurta muurahaishapon annostelutasoa. Tällä menetelmällä saadaan valmistettua hygieenisesti korkealaatuista säilörehua, mikä tekee mahdolliseksi emmental-juustojen valmistuksen säilörehulla tuotetusta maidosta. Rajoittuneesti käynyt säilörehu on hyvä aminohappojen lähde, sillä säilörehun sokkerit ovat käymistuotteita selvästi parempi mikrobien energian lähde. Runsaasti maitohappoa sisältävään rehuun verrattuna happolla säilötty rehu tuottaa pötsissä runsaasti etikka- ja/tai voi happoa, jotka lisäävät maidon rasvapitoisuutta. Samalla kuitenkin tärkeimmän veren sokerin (glukoosi) esias-teen eli propionihapon tuotanto vähenee ja glukoosin puute voi huonontaa aminohappojen hyväksikäyttöä maitovalkuaisen tuotantoon. Runsaampi rehun syönti on rajoittuneesti käyneen säilörehun toinen ravitsemuksellinen etu runsaasti maitohappoa sisältävään ja/tai sekundäärisesti käyneeseen rehuun verrattuna. Säilörehun ravitsemuksellisia puutteita (esimerkiksi glukoosin puute) tai huonomman säilörehun niukempaa syöntiä voidaan yrittää korjata täydennysruokinnan avulla.

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää nurmirehun säilöntätavan (heinä vs. säilörehu) ja säilörehun käymistyyppin (rajoittunut, maitohappo, sekundäärinen) vai-

kutuksia rehun syöntiin, lehmien käyttäytymisen, erityisesti syöntikäyttäytymiseen, ravintoaineiden saantiin, maidontuotantoon, maidon koostumukseen ja makuominaisuuksiin. Edelleen tavoitteena oli tutkia, miten suomalaiset perusruokintatyyppit vaikuttavat maidon vitamiinipitoisuuksiin ja rasvahappokoostumukseen. Lisäksi selvitettiin, miten nurmirehujen laadun vaikutusta ravintoaineiden saantiin ja tuotantoon voidaan tasapainottaa täydennysruokinnan määrän ja koostumuksen suhteen.

Aineisto ja menetelmät

Rehut ja ruokinta

Koerehuina oli 4 nurmirehua, jotka korjattiin kesäkuussa 1996 timotei-nurminataskuvustosta. Nurmi niitettiin niittomurskaimella ja korjattiin lievästi esikuivattuna tarkkuussilppurilla (säilörehut) tai kuivatettiin (heinä). Säilöntäaineena käytettiin 7,5 l/t AIV 2 -liuosta rajoittuneesti käyneen säilörehun (RS) tuottamiseksi. Maitohappokäynyt rehu (IS) tuotettiin käyttämällä säilöntäaineena maitohappobakteeri/entsyymi -valmistetta. Painorehu (US) valmistuksessa ei käytetty säilöainetta, minkä lisäksi siilo täytettiin hitaasti sekä tiivistettiin ja peitettiin normaalia huonommin sekundäärisen käymisen aikaan saamiseksi. Heinä (H) kuivatettiin pellolla noin 700 g/kg kuiva-ainepitoisuuteen (ka), paalattiin ja lato-kuivatettiin. Heinän korjuu ei onnistunut tavoitteen mukaisesti samaan aikaan kuin säilörehujen korjuu sateisen sään vuoksi (pilaantui täysin). Tämän vuoksi heinä jouduttiin korjaamaan noin 1 viikkoa myöhemmin kuin säilörehut.

Neljän nurmirehun lisäksi lehmillä oli 4 erilaista väkirehuokintaa. Perusväkirehu koostui ohrasta, kaurasta, melassileikkeestä ja rypsirouheesta ja sitä annettiin joko 7 tai 10 kg/pv. Nämä väkirehuannokset annettiin joko ilman propyleeniglykolia (PG-) tai niihin lisättiin 210 g/pv propyleeniglykolia (PG+), joka teoriassa vastaa 250 g:n lisäys-

tä glukoosin saannissa. Perusväkirehu sisälsi kuiva-aineessa 169 g/kg raakavalkuaista ja 12,0 MJ/kg muuntokelpoista energiaa (ME).

Koe tehtiin cyclic change-over -kokeena 32 ay-rotuisella lehmällä, jotka oli jaettu tuotoksen perusteella kahteen blokkiin. Kokeessa oli neljä 21 pv:n mittaista koejaksoa ja 16 koeruokintaa, jotka oli järjestetty $4 \times 2 \times 2$ -faktoriaalisesti (4 nurmirehua, 2 väkirehutasoa ja 2 PG-tasoa). Jakson kaksi ensimmäistä viikkoa oli valmistuskautta ja mittaukset tehtiin jakson viimeisen viikon aikana.

Mittaukset ja analyysit

Tutkimuksessa mitattiin rehun syönti ja maitotuotokset päivittäin, mutta tilastanalyysit tehtiin jakson 3. viikon tuloksista. Lehmien syönti- ja muu käyttäytyminen mitattiin havainnoimalla niitä 5 minuutin välein 48 h ja olettamalla, että havaittu aktiiviteetti jatkui havaintojakson (5 min) ajan. Rehuannoksen sulavuus mitattiin blokki I:n eläimiltä käyttämällä happoon liukenevatonta tuhkaa sisäisenä merkkiaineena. Pötsinestenyttöt otettiin nieluletkulla kahtena peräkkäisenä päivänä. Aineenvaihduntaa kuvaavien parametrien määrittämiseksi lehmiltä otettiin verinäytteet ennen ruokintaa ja 4 h ruokinnan jälkeen. Lisäksi tehtiin fistelöidyillä koe-eläimillä tutkimus, jossa selvitettiin yksityiskohtaisemmin koesäilörehujen vaikutusta ravintoaineiden saantiin. Pötsintyhjennystekniikan avulla pyrittiin selvittämään rehun syönnin säätelyn vaikutuksia eli miksi säilörehun käymislaatu vaikuttaa syöntiin.

Johtopäätökset ja tulosten käytännön merkitys

1. Sääriskit ovat huomattavasti suuremmat korjattaessa nurmirehu heinäksi

kuin säilörehuksi. Vaikka olosuhteet säilörehun valmistuksen aikaan olisivat huonotkin, säilörehusta saadaan ravintoainesisällöltään parempaa rehua kuin myöhemmin korjatusta heinästä. Säilöntäaine vaikuttaa oleellisesti rehun käymislaatuun. Biologiset säilöntäaineet tuottavat ainakin hyvissä olosuhteissa runsaasti maitohappoa sisältävää rehua, jossa valkuaisen hajoaminen on suhteellisen vähäistä. Hapojen käyttö rajoittaa sekä käymistä että valkuaisen hajoamista.

2. Käyttäytymistutkimukset osoittivat, että pureskeluaika on säilörehuun perustuvalla ruokinnalla riittävä eikä ”pitkää kuitua” heinän muodossa tarvita pötsitoimintojen ylläpitämiseksi. Heinäruokinnalla pitkä pureskeluaika saattaa jopa muodostua ravintoaineiden saantia rajoittavaksi tekijäksi. Heinäruokinnalla kuiva-ainekilon syöntiin tarvittiin noin 20 % enemmän aikaa, joten pötsiin tullessaan heinän partikkelikoko saattaa olla pienempi kuin nopeasti syödyn säilörehun. Koska heinää ei tarvita pötsitoimintojen ylläpitämiseksi, nurmirehun korjuusta selvittää yhdellä koneketjulla ja siten voidaan merkittävästi pienentää nurmirehun tuotantokustannuksia.
3. Säilörehun käymislaadulla on merkittävä vaikutus rehun syöntiin. Painorehuun verrattuna biologisesti säilötyn rehun syönti lisääntyy. Syönti lisääntyy edelleen rajoitettaessa käymistä muura-haishappoon perustuvilla säilöntäaineilla. Säilörehujen väliset erot kuiva-aineen syönnissä vastasivat käymislaadun ja sulavuuden perusteella lasketun syönti-indeksin eroja. Syönti-indeksiä voidaan käyttää hyväksi ruokinnan suunnittelussa arvioitaessa täydennysruokinnan tarvetta. Lehmät syövät säilörehun kuiva-ainetta vähintään saman verran kuin samalla kehitystasolla korjattua heinää edellyttäen, että säilörehu on laadultaan hyvää.

4. Säilörehun käymislaadulla on merkittävä vaikutus pötsikäymisen lopputuotteiden suhteisiin, maitorauhaseen virtaavien ravintoaineiden määriin ja suhteisiin ja sitä kautta maidon rasvapitoisuuteen. Muurahaishapon käyttö säilöntäaineena lisäsi etikkahapon osuutta ja vähensi propionihapon osuutta pötsin VFA:ssa biologisesti säilöttyyn rehun verrattuna. Väkirehun määrän lisäys ei oleellisesti vaikuttanut pötsin käymistyyppiin. Tulosten perusteella alle 50–60 %:n väkirehutasoilla säilörehun käymislaatu vaikuttaa maidon rasvapitoisuuteen enemmän kuin väkirehun määrän vaihtelu. Suomessa maidon suuri rasvapitoisuus johtuu rajoittuneesti lipogeenisten rasvahappojen lisääntymisestä ja väkirehun määrän pienestä vaikutuksesta pötsin käymistyyppiin rajoittuneesti käyneeseen säilörehuun perustuvalla ruokinnalla.
5. Säilörehuruokinta ei vähennä maidon valkuaispitoisuutta edellyttäen, että säilörehu on rajoittuneesti käynyttä. Usein esitetty väite, että säilörehu vähentää maidon valkuaispitoisuutta, pätee ainoastaan säilörehun ollessa huonolaatuista tai pitkälle käynyttä. Rajoittuneesti käynyt säilörehun runsaampi syönti ja tehokkaampi pötsin mikrobisynteesi tuottaa runsaasti aminohappoja maitovalkuaisen tuotantoon. Painorehuun perustuvalla ruokinnalla tarvittiin 3,6 kg/pv enemmän väkirehua samaan maidon valkuaispitoisuuteen pääsemiseksi verrattuna muurahaishapolla säilöttyyn rehuun. Biologisesti säilötty rehu ei lisännyt maidon valkuaispitoisuutta painorehuun verrattuna.
6. Säilörehun käymislaadun parantuminen lisäsi maitotuotosta ja maidon komponenttien tuotantoa. Säilörehun käymisen rajoittaminen lisää eniten rasvatuotosta lisääntyneen maidon rasvapitoisuuden tuloksena. Myös valkuaisutuoksen lisäys on suurempi kuin laktoosija maitotuotoksen. Korjuun myöhästyminen pienentää selvästi tuotosta, sillä heinäruokinnalla lehmät tuottivat 8 % vähemmän energiakorjattua maitoa kuin RS-rehua saaneet lehmät. Painorehuun huonomman laadun kompensoimiseksi tarvittiin 2,3 ja 3,6 kg/pv enemmän väkirehua kuin IS- ja RS-rehua saaneilla. Tuloksia voidaan hyödyntää arvioidessa säilörehun käymislaadun taloudellista vaikutusta.
7. Väkirehulla saatiin varsin huono tuotosvaste erityisesti säilörehuruokinnalla. Väkirehuruokinnan taso ei vaikuttanut maidon rasvapitoisuuteen, mutta lisäsi valkuaispitoisuutta. Huono tuotosvaste johtuu osaksi sulatuksen negatiivisista yhdysvaikutuksista, sillä todellinen sulavan orgaanisen aineen saannin perusteella laskettu energian saannin lisäys oli vain 75 % odotetusta. Mitattujen veriparametrien perusteella runsaammin väkirehua saaneiden lehmien energiataase ei oleellisesti muuttunut. Tunnettaessa väkirehulisäysten todelliset biologiset vaikutukset ja vaikutusmekanismit mahdollisuudet taloudellisen tuloksen optimointiin parantuvat oleellisesti verrattuna olettamuksiin lineaarisista laskennallisen energian saannin ja tuotoksen välisistä yhteyksistä. Tuloksia voidaan hyödyntää myös ruokinnan suunnittelussa käyttämällä väkirehuille käyttömäärästä riippuvaa energia-arvoa.
8. Säilörehun laadun ja väkirehun määrän vaikutukset tuotosparametreihin olivat additiivisia eli säilörehun huonomman laadun vaikutusta ei voitu oleellisesti pienentää lisäämällä väkirehun määrää.
9. Rajoittuneesti käynyt säilörehu vähensi plasman glukoosipitoisuutta muihin karkearehuihin verrattuna. PG lisäsi lehmien glukoosin saantia, mikä näkyi suurempana plasman glukoosipitoisuutena. Se ei kuitenkaan pystynyt korjaamaan rajoittuneesti käyneen säilörehun ravitsemuksellista puutetta eikä valku-

aistuotos lisääntynyt. Syynä voi olla säilörehun syönnin vähentyminen ja/tai glukoosin saannin liian nopea lisäys ruokinnan jälkeen. Muissa MTT:n tutkimuksissa jatkuva glukoosin infuusio juokutusmahaan on lisännyt valkuaisuutuosta rajoittuneesti käyntyttä säilörehua ja viljaa saaneilla lehmillä. Paras hyöty PG:sta saatiin heinäruokinnalla (valkuaisuutuosisuus lisääntyi 47 g/pv). Ravintoaineiden saannin tasapainottaminen, erityisesti glukoosin saannin lisääminen rajoittuneesti käyneeseen säilörehuun perustuvalla ruokinnalla vaatii lisätutkimuksia.

10. Nurmirehun laatu ja väkirehutäydennykset vaikuttivat jonkin verran maidon rasvahappokoostumukseen. Esimerkiksi maitorasvan konjugoituneen linolihapon (CLA) pitoisuus oli RS-rehua saaneilla lehmillä noin 20 % suurempi kuin muilla nurmirehuilla. Regressioanalyysin perusteella $C_{18:1-trans}$ oli merkittävin CLA:n lähde. Tämä sekä projektin toinen tutkimus antoivat uutta tietoa käytännön ruokintavaihtoehtojen ja ravintoaineiden saannin vaikutuksista maidon rasvahappokoostumukseen. Lisääntynyt propionihapon osuus pötsissä lisäsi jonkin verran paritoman hiiliatomin rasvahappojen (C_{15} ja C_{17}) osuutta maitorasvassa.
11. Karkearehuilla oli merkittäviä vaikutuksia maidon vitamiinipitoisuuksiin. Säilörehu lisäsi heinäan verrattuna -tokoferolin (E-vitamiini) ja β -karoteenin pitoisuuden 2,1- ja 1,6-kertaiseksi heinäruokintaan verrattuna. Säilörehun käymislaadun parantuminen lisäsi joidenkin B-vitamiinien pitoisuutta maidossa. Tuloksilla on merkitystä arvioidessa suomalaisten vitamiinien saantia maitotuotteista.
12. Nurmirehun laatu tai väkirehun määrä eivät vaikuttaneet merkittävästi maidon makuun.

Osatutkimus II

Typpilähteen vaikutus rehun syöntiin, sulavuuteen, maidontuotantoon ja maidon juustoutumisominaisuuksiin

Johdanto

Suomessa otettiin käyttöön uusi rehuvalkuaisen arviointijärjestelmä vuonna 1995. Se perustuu ohutsuolesta imeytyvään valkuaiseen (OIV) ja pötsin valkuaisaseeseen (PVT). Järjestelmä on muunnos pohjoismaisesta AAT-PBV -järjestelmästä. Aikaisempaan sulavaan raakavalkuaiseen (SRV) perustuvaan järjestelmään verrattuna uusi OIV-PVT -systeemi ottaa märehitijöiden ruoansulatuksen fysiologian paremmin huomioon, sillä siinä lasketaan erikseen pötsimikrobien tyypellisten aineiden tarve ja isäntäeläimen aminohappojen tarve. Uusi järjestelmä antaa aikaisempaa paremmat mahdollisuudet märehitijöiden valkuaisuutuokinnan optimointiin sekä tavoiteltaessa hyvää taloudellista tulosta että pyrittäessä minimoimaan ympäristöön kohdistuva typpi-kuormitus.

Valkuaisen saantia on mahdollista lisätä monin eri tavoin. Valkuaisen arvioinnin perustuessa SRV:hen lehmien valkuaisen saantia pyrittiin usein lisäämään joko aikaistamalla säilörehun korjuuta tai lisäämällä nurmen typpilannoitusta. Nurmirehun korjuun aikaistaminen on lisännyt aminohappojen virtausta ohutsuoleen, mutta lisäys on selvästi pienempi kuin raakavalkuaisen saannin lisäys. Siten suuri osa lisätypestä menetetään pötsistä imeytyneenä ammoniakkinä, joka eritetään virtsan mukana ulos. Maidontuotannossa säilörehun aikaisempi korjuu on kuitenkin selvästi lisännyt maito- ja valkuaisuutuosta. Maidontuotannossa säilörehusta saadun lisävalkuaisen hyväksikäyttö oli tässä tutkimuksessa vähintään yhtä tehokasta kuin rypsirouheesta saadun lisävalkuaisen, vaikka rypsilä saatiinkin varsin hyvä tuotosvaste. Fysiologisessa tutkimuksessa valkuaisen virtaus

ohutsuoleen ei lisääntynyt, kun säilörehun valkuaispitoisuutta lisättiin nurmen typpilannoituksen avulla eli kaikki lisätyppi menetettiin pötsistä imeytyneenä ammoniakina.

Maidon ureapitoisuutta on käytetty Suomessa jo pitkään kuvaamaan valkuaisruokinnan onnistumista tilatasolla. Liian suuri ureapitoisuus osoittaa typen huonoa hyväksikäyttöä ja saattaa huonontaa eläinten terveyttä ja hedelmällisyyttä. Lisäksi maidon urea ja muut NPN-yhdisteet saattavat huonontaa maidon juustoutumisominaisuuksia. Toisaalta valkuaisruokinnan tehostamisella voidaan jonkin verran lisätä maidon valkuaispitoisuutta ja siten mahdollisesti parantaa juustoutumista. Juustosaaliilla on juustonvalmistuksen taloudellisen tuloksen kannalta oleellinen merkitys. Käytännön kenttäkokeet ovat antaneet viitteitä siitä, että hyvälaatuisella valkuaisrehulla kuten rypsipuristeella maidon juustoutumisominaisuuksia voidaan parantaa ja juustoutumattomuuteen liittyviä ongelmia vähentää.

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää, miten rehuvalkuaisen määrä ja laatu vaikuttavat maidon ureaan ja muihin NPN-yhdisteisiin (1), rehun syöntiin ja maidontuotantoon (2), maidon laatuun ja juustoutumiseen (3) sekä eri ruokinnoilla tuotetun maidon vaikutukset juuston määrään ja laatuun (4). Kahdessa kirjallisuustutkimuksessa käsitellään erikseen maidon ureapitoisuuden ja valkuaisruokinnan vaikutuksia lehmien hedelmällisyyteen sekä ruokinnallisten tekijöiden vaikutusta maidon ureapitoisuuteen. Tutkimukset tullaan julkaisemaan tieteellisinä julkaisuina.

Aineisto ja menetelmät

Ruokinnat ja koejärjestelyt

Rehuannoksen valkuaispitoisuutta muutettiin joko nurmirehun typpilannoituksella tai lisäämällä väkirehuun ureaa, vehnägluteiinia tai rypsipuristetta (Öpex[®]). Tavoit-

teena oli, että rehuannoksen valkuaispitoisuudessa ja lisävalkuaisen laadussa olisi mahdollisimman suurta vaihtelua, jotta maidon ureapitoisuuden vaihtelu olisi riittävän suurta. Urean typpi on pötsissä erittäin nopeasti hajoavaa ja sen hyväksikäytön edellytyksenä on negatiivinen PVT ja mikrobien riittävä energian saanti, jolloin urean N pystytään käyttämään mikrobivalkuaisen typen lähteenä. Säilörehun tyypestä on keskimäärin 50–60 % NPN-muodossa, mutta hyvälaatuisessa säilörehussa aminohapot ja peptidit muodostavat suuren osan NPN:stä. Paremman koostumuksen lisäksi säilörehun typpi ei myöskään hajoa pötsissä täysin, joten teoriassa nurmen lisälannoituksella saadun valkuaisen laatu on ureaa parempi. Vehnägluteiini valittiin valkuaisen lähteeksi sillä perusteella, että sen valkuainen on lähes kokonaan puhdasvalkuaisista, mutta sen aminohappokoostumus on huono täydentämään säilörehu-viljaruokinnan puutteita. Erityisesti lysiinipitoisuus on pieni, mutta myös metioniinia ja histidiiniä on vähemmän kuin rypsisissä. Vehnägluteiinin valkuaisen pötsihajoavuudesta ei ole tietoa eikä sitä perinteisellä nailonpussimenetelmällä voida määrittää. Prosessointitavan ja viljan valkuaisen suuren pötsihajoavuuden perusteella vehnävalkuaisen pötsihajoavuuden voidaan arvioida olevan kohtuullisen suuri, joka tapauksessa suurempi kuin rypsipuristeen. Rypsipuriste samoin kuin rypsirouhe ovat osoittautuneet lukuisissa tutkimuksissa erittäin hyväksi säilörehu-viljaruokinnan täydentäjäksi. Niiden pötsihajoavuus on alempi kuin säilörehun ja viljan ja erityisesti niiden aminohappokoostumus on hyvä täydentämään perusruokinnan puutteita. Rypsi on yksi parhaista kasvivalkuaisrehuista histidiinin lähteenä.

Säilörehut tehtiin toisesta sadosta, jotka oli lannoitettu käyttämällä joko 50 (N50) tai 100 kg N/ha (N100). Rehut säilöttiin esikuivattuna käyttämällä muurahaihappon perustuvaa säilöntäainetta 5 l/t kahteen laakasiiloon. Säilörehujen raakavalkuaispitoisuuksiksi tuli 120 ja 150 g/kg ka. Rehujen valkuaispitoisuuksiin saatiin tavoiteltu ero.

Tuotantokoe tehtiin 4×2 -faktoriaalisena kokeena siten, että kummankin säilörehun (N50 ja N100) annettiin neljä erilaista valkuais täydennystä (kontrolli ilman lisävalkuaista (K), urea (U), vehnägluteiini (VG) ja rypsipuriste (RP)). Ruokinnat suunniteltiin siten, että säilörehuruokintojen sisällä U, VG ja RP olivat isonitrogeenisia eli näiden kolmen väkirehun valkuaispitoisuus oli sama. Lisäksi täydennysvalkuaisen määrää laskettiin siten, että se korvasi säilörehujen valkuaispitoisuuden eron olettamalla säilörehun syönniksi 12 kg ka/pv. N50-säilörehu täydennettynä valkuaisrehuilla vastasi siten N100-säilörehua ilman väkirehun lisävalkuaista. Urean, VG:n ja RP:n osuudet väkirehusta olivat 14,4, 57,2 ja 188,0 kg/t. Valkuais täydennyksen määrät suunniteltiin siten, että lisävalkuaisen määräksi tuli sama kuin säilörehujen välinen ero oletetulla 12 kg:n kuiva-aineen (ka) syöntitasolla eli N100-K:n valkuaispitoisuus oli sama kuin N50-U:n N50-VG:n ja N50-RP:n.

Mittaukset ja analyysit

Rehujen syönti, maitotuotos, veriparametrit ja rehuannosten sulavuus määritettiin kuten osatutkimuksessa I. Pötsikäymistä ja syöntikäyttäytymistä ei tutkittu tässä kokeessa.

Kahden peräkkäisen lypsykerran maitomäärän suhteen yhdistetyistä näytteistä määritettiin maidon rasvahappokoostumus, typpifraktiot (kokonais-N, NPN, eikaseiini-N, hera-N) sekä juoksettuminen. Kahden lypsykerran maitonäytteestä otettiin erilliset näytteet urea- ja allantoiinimäärityksiin. Juuston valmistusta varten kerättiin maitoa neljästä peräkkäisestä lypsystä yhteensä noin 120 litraa. Maito yhdistettiin ruokinnoittain eli kultakin koejakolta kerättiin juuston valmistukseen 8 näytettä.

OIV:n ja PVT:n saanti laskettiin käyttämällä rehu taulukoiden arvoja väkirehuille. Koska vehnägluteiinille ei ole rehu taulukoissa esitetty valkuaisarvoja, sen OIV ja

PVT laskettiin olettamalla sen hajoavuudeksi 0,70. Tämä oletamus perustuu vehnän valkuaisen hajoavuuteen (0,85) ja siihen, että hajoavuus valmistusprosessin aikana jonkin verran pienenee. Tuotantokokeen tulosten perusteella voidaan arvioida, miten hyvin VG:n arvioitu OIV-pitoisuus vastaa sen todellista tuotantovaikutusta.

Johtopäätökset ja tulosten käytännön merkitys

1. Pelkästään säilörehun raakavalkuaispitoisuuden nostamiseksi nurmen N-lannoitusta ei kannata lisätä, vaan lannoituksen optimointi tulee tehdä sadon määrän perusteella (suuremmalla valkuaispitoisuudella ei ole lisäarvoa). Toisaalta tämän kokeen tulokset eivät myöskään puolla lannoitustason vähentämistä, sillä lisätyppellä on saatu 50 ja 100 kg/ha varsin hyviä ja taloudellisesti kannattavia sadon lisäyksiä.
2. Ureasta on hyötyä pötsimikrobien N:n lähteenä, kun dieetin raakavalkuaispitoisuus on pieni (alle 130 g kg ka) ja PVT on reilusti negatiivinen (yli 20 g/kg ka). Urean lisätyypen hyväksikäyttö oli parempi kuin lannoituksella lisätyn säilörehun lisätyypen. Tämä johtui todennäköisesti runsaammin lannoitetun säilörehun hieman huonommasta käymislaadusta.
3. Valkuaisrehuilla saadaan kuitenkin parempia tuotosvasteita kuin urealla ja samalla pötsimikrobien N:n tarve pystytään tyydyttämään eli käytännössä urean käyttömahdollisuudet ovat pienet.
4. Rypsipuriste on erinomainen lypsylehmien valkuaisrehu. Maito- ja valkuais tuotos lisääntyivät 1,7 kg ja 65 g/pv korvattaessa viljaväkirehusta kilo rypsi-

- puristeella. Osa tuotoksen lisäyksestä perustuu ME:n saannin lisääntymiseen, mutta lisäenergialla saatu rajatuotos on 3–4 -kertainen väkirehun lisäenergialla saatuun rajatuotokseen verrattuna.
- Rypsipuristeella saatu tuotosvaste ei riippunut säilörehun valkuaispitoisuudesta. Käytännön ruokinnan kannalta tämä tulos antaa selkeän mahdollisuuden ruokinnan yksinkertaistamiseen, kun nurmirehun valkuaispitoisuutta ei tarvitse ottaa huomioon ruokinnan suunnittelussa muutoin kuin varmistamalla, että PVT:n saanti ei ole alle -20 g/kg ka. Tällä on erityisesti merkitystä luomutilojen valkuaisruokinnan järjestyksessä, sillä nurmirehun valkuaispitoisuus vaihtelee voimakkaasti apilan osuuden mukaan.
 - Rypsipuristeella voidaan vaikuttaa edullisesti maidon rasvahappokoostukseen ilman, että tyypillisiä rasvatäydennyksen haittoja (kuidun sulavuuden huononeminen, karkearehun syönnin vähentyminen, maidon valkuaispitoisuuden väheneminen). Rypsipuriste vähensi haitallisena pidetyn palmitiinihapon osuutta ja lisäsi terveyden kannalta neutraaleina tai positiivisina pidettyjen steariinihapon, öljyhapon, linolihapon ja linoleenihiapon osuutta merkitsevästi. Mielenkiintoista oli myös antikarsinogeenisena pidetyn konjugoidun linolihapon (CLA) osuuden nousu noin 40 %:lla. Valkuaisruokinnan tehostaminen vähentää yleensä hieman maidon rasvapitoisuutta (tässä tutkimuksessa 1,2 g/kg).
 - Valkuaisruokinnan tehostaminen vähensi maidon juoksettumisaikaa ja paransi juoksettuman kiinteyttä. Teknisten syiden vuoksi juustoja ei voitu tehdä yksittäisten lehmien maidosta, joten juustosaalista ja juuston laatua koskevat tulokset ovat ainoastaan suuntaan antavia. Keskimäärin rypsipuristeella saatiin kuitenkin hieman runsaampi juustosaalis.
 - Samoin valkuaisen ja rasvan hyväksikäyttö juuston valmistuksessa hieman parani rypsipuristetta sisältävällä ruokinnalla. Tulokset viittaavat siihen, että ongelmalehmien maidon juoksettavuus parantui valkuaisruokintaa tehostettaessa, mutta tältä osin tarvitaan vielä lisätutkimuksia. Eniten juoksettavuusongelmia oli vehnägluteiinia sisältävällä ruokinnalla.
 - Ruokintojen vaikutukset valkuais- tuotokseen pystyttiin ennustamaan varsin hyvin OIV:n saannin perusteella. OIV:n saanti selitti valkuaisuotoksen vaihtelun huomattavasti paremmin ($r = 0,979$) kuin raakavalkuainen ($r = 0,472$) tai valkuaisen saannin ja sula- vuuden perusteella laskettu sulava raakavalkuainen ($r = 0,532$). Tuotantoko- keen tulosten perusteella pystytään arvioimaan uusien valkuaisrehujen arvo kohtuullisen tarkasti edellyttäen, että mukana on tunnetuista komponenteista koostuva väkirehu ilman valkuais- täydennystä ja täydennettynä jollakin hyvin tunnetulla valkuaisrehulla kuten esi- merkiksi rypsilällä.
 - Vehnägluteiini osoittautui tuotantovai- kutukseltaan odotettua paremmaksi valkuaisrehuksi etenkin vähän valkuais- ta sisältävän säilörehun täydentäjänä. Positiivinen tulos voi selittyä osittain mikrobisynteessin tehostumisella ja osit- tain glukogeenisten aminohappojen ja glukoosin saannin lisääntymisellä. Mai- don juustoutumisen ja juustosaaliin kannalta vehnägluteiini näyttäisi olevan rypsipuristetta huomoinmpi valkuaisrehu.
 - Molemmissa osatutkimuksissa ME:n saanti oli huomattavasti pienempi las- kettaessa se lehmillä määritetyn rehu- noksen sulavuuden perusteella verrattu- na rehutaulukoiden ja säilörehun *in vitro* -sulavuuden perusteella laskettuun ME:n saantiin. Ero johtuu ruokintata- son sulavuutta huonontavasta vaiku- tuksesta, joka korostuu sulatuksen ne-

gatiivisten yhdysvaikutusten vuoksi ainakin tässä tutkimuksessa käytetyllä korkeammalla väkirehutasolla. Nämä vaikutukset tulisi ottaa huomioon käytännön ruokinnan suunnittelussa, sillä laskennallisen energian saannin perusteella odotettavissa oleva maitotuotos ei toteudu. Sen sijaan tuotos vastasi hyvin todellisen ME-saannin perusteella enustettua tuotosta.

11. Maidon ureapitoisuuden muutokset suhteutettuna dieetin valkuaispitoisuuden muutoksiin kuvaavat varsin hyvin lisävalkuaisen hyväksikäyttöä. Maidon ureapitoisuuden vaihtelu ei vaikuttanut juuston valmistukseen. Juustoutumisaika lyheni valkuaisen saannin lisääntyessä, vaikka maidon ureapitoisuus samalla lisääntyi. Ureapitoisuuden muutos tapahtui kuitenkin maidontuotannon kannalta liian alhaiselta tasolta optimitasolle. Vaikutukset saattavat olla erilaisia ureapitoisuuden lisääntyessä yli suositustason, joka perustuu lehmien tuotoksen, terveyden ja hedelmällisyyden optimointiin.
12. Ureapitoisuuden vaihtelu selitti maidon NPN-pitoisuuden vaihtelun lähes kokonaan ($r = 0,98$). Muiden NPN-yhdisteiden kuin urean pitoisuus maidossa oli keskimäärin 0,14 g/l eikä se riippunut maidon ureapitoisuudesta tai dieetin valkuaispitoisuudesta.

Osatutkimus III

Ruokinnan vaikutus maidon rasvaliukoisten vitamiinien pitoisuuksiin.

Kuumennuskäsittelyjen vaikutus maitosokerin isomeroitumiseen ja sen jatkoreaktioon proteiinien kanssa

Johdanto ja

tutkimuksen tavoitteet

Maidon merkitys erilaisten ravintoaineiden lähteenä on huomattava. Maito ja maitovalmisteet ovat monien kivennäisaineiden ja vitamiinien tärkeimmät lähteet. Näistä voidaan mainita erityisesti kalsium, mutta myös fosforin, molybdeenin, kromin, kaliumin, magnesiumin, sinkin, seleenin ja jodin lähteinä ne ovat tärkeitä. Maito sisältää sekä vesi- että rasvaliukoisia vitamiineja; vesiliukoisista B-ryhmän vitamiineista mainittakoon riboflaviini ja tiamiini ja rasvaliukoisten vitamiinien A-vitamiiniyhdisteistä β -karoteeni ja all-*trans*-retinoli ja E-vitamiiniyhdisteistä α -tokoferoli. Näistä B-ryhmän vitamiinit syntyvät pääosin lehmän pötsin mikrobitoiminnan vaikutuksesta, mutta rasvaliukoisten vitamiinien pitoisuuden maidossa määrää ruokinta. Ruokinnan ja erityisesti karkearehun vaikutus maidon rasvaliukoisten vitamiinien pitoisuuksiin tunnetaan puutteellisesti.

Erityisesti kuumennusprosessit voivat muuttaa maidon koostumusta. Osa maitosokerista eli laktoosista isomeroituu kuumennuksessa laktuloosiksi. Sekä laktoosi että laktuloosi ovat hyvin reaktiivisia proteiinien lypsylihtähteen (välttämätön aminohappo) kanssa käynnistäen Maillard-reaktion, jolloin lysiinin käyttökelpoisuus vähenee. Ensi vaiheessa syntyy laktoosyyli- ja laktulosyyliysiiniä, joita ei voida kemiallisesti määrittää sellaisenaan vaan ne määritetään furosiinina, joksi em. muodot muuttuvat kemialliseen analyysiin liittyvässä proteiinien happohajotuksessa. Pastö-

roidun maidon furosiinipitoisuuden rajaksi on Euroopan unionissa asetettu 8,5 mg/100 g proteiinia. Koska maito ja maitotuotteet ovat hyvä proteiininlähde ravinnossamme, on siihen vaikuttavia seikkoja tutkittava entistä tarkemmin.

Tutkimuksen tavoitteena oli 1) selvittää erilaisten karkearehujen (heinä, rajoitetusti käynyt, maitohappokäynyt ja sekundäärisesti käynyt säilörehu) vaikutus maidon tärkeimpien rasvaliukoisten vitamiinien (α -tokoferoli, β -karoteenin ja all-*trans*-retinolin) pitoisuuteen (osatutkimus I), 2) selvittää erilaisten kaksoispastöroinnissa käytettyjen lämpötilojen vaikutusta maitosokerin isomeroitumiseen (osatutkimus I), 3) selvittää erilaisten typpiruokintojen vaikutusta maidon rasvaliukoisten vitamiinien pitoisuuksiin (osatutkimus II) ja 4) selvittää erilaisten typpiruokintojen vaikutusta maidon furosiinin muodostumisherkkyyteen (osatutkimus II).

Näihin tutkimusosioihin liittyi olennaisena osana elintarvikekemiallisten ja kromatografisten menetelmien kehittämistyö.

Aineisto ja menetelmät

Osatutkimus I:een liittyvien rehujen ja ruokintakokeiden koejärjestelyt on esitetty tässä kirjoituksessa aiemmin. Karkearehut olivat heinä ja eri tavoin käyneet säilörehut (rajoitetusti käynyt, maitohappokäynyt ja sekundäärisesti käynyt).

Rasvaliukoisten vitamiinien (α -tokoferoli, β -karoteeni ja all-*trans*-retinoli) yhtäaikaista määrittämistä varten kehitettiin pienen mittakaavan uuttomentelmä ja suora-faasinestekromatografinen määrittäysmenetelmä (Salo-Väänänen et al. 1999), jolla näytteiden (16 lehmän maidot neljältä ruokintajaksolta) vitamiinipitoisuudet määritettiin. Menetelmässä näyte (1 g) kuuma-saippuoiitiin kaliumhydroksidilla ja rasvaliukoiset vitamiinit uutettiin heksaani:etyyliasettaatti -seoksella (8+2). α -tokoferolin pitoisuudet määritettiin nestekromatogra-

fisesti fluoresenssideteksiolla (viritysaallonpituus 292 nm ja emissioaallonpituus 325 nm) ja β -karoteeni ja all-*trans*-retinoli UV-deteksiolla aallonpituuksilla 450 nm ja 325 nm. Jotta vitamiinien siirtymistä rehusta maitoon voitaisiin tarkastella, kehitettiin myös rehujen vastaavien vitamiinien analysoimista varten omat menetelmät. Rehujen tokoferolipitoisuudet määritettiin kuuma-saippuoinnin ja heksaani:etyyliasettaatti-uuton jälkeen suora-faasinestekromatografisella menetelmällä fluoresenssideteksiolla. Karotenoidit eristettiin rehuista isopropanolikeitolla ja määritettiin vedettömällä käänteisfaasinestekromatografisella menetelmällä UV-deteksiolla.

Laktoosin isomeroitumista laktuloosiksi tarkasteltiin määrittämällä Maatalouden tutkimuskeskuksen Elintarvikkeiden tutkimusyksikössä tehtyjen kaksoispastöroitujen maitojen laktuloosipitoisuuksia siihen kehitetyllä kapillaarikaasukromatografisella menetelmällä, josta valmistui pro gradu -tutkielma (Haarvoja 1997). Samalla menetelmällä määritettiin myös kaupallisten pastöroitujen maitojen laktuloosipitoisuuksia.

Osatutkimukseen II:een liittyvät ruokinnat ja koejärjestelyt on esitetty tässä kirjoituksessa aiemmin. Rasvaliukoiset vitamiinit tutkittiin eri typpitasoisilla säilörehuilla, väkirehulla ja rypsipuristeella ruokittujen lehmien maidoista. Maitonäytteistä (16 kpl) määritettiin niiden rasvaliukoisten vitamiinien pitoisuudet samalla tavoin kuin osatutkimus I:n näytteiden yhteydessä. Vastaavasti tämän koesarjan rehuista määritettiin kyseiset rasvaliukoiset vitamiinit.

Typpitason ja -lähteen vaikutusta maidon furosiinipitoisuuden muodostumisherkkyyteen tarkasteltiin eri typpitasoisilla säilörehuilla, väkirehulla ja joko urealla tai rypsipuristeella täydennetyillä väkirehuilla ruokittujen lehmien maidoista. Maitonäytteitä kuumennettiin 15 minuuttia 100 °C:ssa ja niiden proteiinit hajotettiin kloorivetyhapolla 24 tunnin ajan 110 °C:ssa. Happo haihdutettiin kuiviin ja furosiinipitoisuudet määritettiin. Furosiinipitoisuu-

sien määrittämiseksi kehitettiin ioniparineskromatografinen menetelmä, jossa furossiinipitoisuus määritettiin UV-detektioilla 280 nm:n aallonpituudella.

Johtopäätökset

Tutkimuksen tuloksista voitiin tehdä seuraavat johtopäätökset:

1. Säilörehun valmistustapa vaikuttaa sen omaan α -tokoferolipitoisuuteen, jolloin maitohappokäyneessä säilörehussa α -tokoferolipitoisuus oli keskimäärin kaksinkertainen. Säilörehu lisäsi sillä tuotetun maidon α -tokoferolipitoisuutta 2,1-kertaiseksi verrattuna heinään. Samantyyppistä vaikutusta havaittiin β -karoteenin suhteen (1,6-kertainen verrattuna heinään).
2. Koska ruokinnan vaikutus maidon vitamiinipitoisuuksiin oli näin suuri, tulisi

myös arvioida, onko sillä vaikutusta ihmisravitsemuksen kannalta.

3. Rehu- ja maitonäytteiden rasvaliukoisten vitamiinien pitoisuuksien perusteella voidaan arvioida entistä täsmällisemmin niiden siirtymistä rehusta maitoon.
4. Kaupallinen pastörointi tai kaksoispastörointi eivät aiheuta laktoosin merkittävää isomeroitumista (pitoisuus $< 1\text{mg}/100\text{ml}$).
5. Rehun typpilähde (väkirehu, urealla tai rypsipuristeella täydennetty väkirehu) tai säilörehun typpipitoisuus eivät olennaisesti vaikuta maidon rasvaliukoisten vitamiinien pitoisuuksiin.
6. Rehun typpilähde (väkirehu, urealla tai rypsipuristeella täydennetty väkirehu) tai säilörehun typpipitoisuus eivät vaikuta maidon furossiinin muodostumisalttiuteen.

Kirjallisuus

Haarvoja, J. 1997. Laktuloosi ja sen määrittäminen nestemäisistä maitovalmisteista kapillaarikaasukromatografisesti. EKT-sarja 1084. Helsinki. Pro gradu –tutkielma. 58 p.

Huhtanen, P., Shingfield, K.J., Jaakkola, S., Pahkala, E., Lehdonkivi, T., Salo-Väänänen, P. & Piironen, V. 1997. Nurimrehun laadun ja väkirehun vaikutus maidontuotantoon ja maidon laatuun. (Effect of forage quality on milk production and milk quality). In: Maidon uudet sovellukset, Maius-seminaari, Oulu Medipolis Center, 23.5.1997. 2 p.

Jokela, M., Jaakkola, S. & Huhtanen, P. 1998. Ruokinnan vaikutus maidon koostumukseen ja laatuun. In: Jokela, M. et al. (eds.) Keskeisten alkutuotantotekijöiden ja prosessoinnin vaikutus maidon laatuun. Kirjallisuuskatsaus. Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisu. Sarja A 41. Jokiainen: Maatalouden tutkimuskeskus. p. 13–61.

Rokka, T. 1998. Maidon laatuhinnoittelu Suomessa ja tulevaisuuden haasteet. In: Jokela, M. et al. (eds.) Keskeisten alkutuotantotekijöiden ja prosessoinnin vaikutus maidon laatuun. Kirjallisuuskatsaus. Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisu. Sarja A 41. Jokiainen: Maatalouden tutkimuskeskus. p. 9–12.

– **Korhonen, H.** 1998. Prosessoinnin vaikutus maidon laatuun. In: Jokela, M. et al. (eds.) Keskeisten alkutuotantotekijöiden ja prosessoinnin vaikutus maidon laatuun. Kirjallisuuskatsaus. Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisu. Sarja A 41. Jokiainen: Maatalouden tutkimuskeskus. p. 63–76.

Salo-Väänänen, P. & Piironen, V. 1998. Maidon ravitsemuksellinen laatu. In: Jokela, M. et al. (eds.) Keskeisten alkutuotantotekijöiden ja prosessoinnin vaikutus maidon laatuun. Kirjallisuuskatsaus. Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisu. Sarja A 41. Jokiainen: Maatalouden tutkimuskeskus. p. 77–98.

–, **Ollilainen, V., Mattila, P., Lehtikoinen, K., Salmelö-Mölsä, E. & Piironen, V.** 1999. Simultaneous HPLC analysis of fat-soluble vitamins in selected animal products after small-scale extraction. *Food Chemistry*. (Submitted)

Shingfield, K.J., Huhtanen, P. & Kaustell, K. 1997. Milk Urea:- It's use as a diagnostic. In: *Kotieläintieteen päivät, Helsinki*. p. 81–85.

– **& Huhtanen, P.** 1998. Evaluation of nutritional factors influencing milk urea concentrations. *Journal of Dairy Science* 81 (Supplement) 1:316. (Abstract)

–, **Jaakkola, S., Huhtanen, P., Pakkala, E., Lehtonen, T., Salo-Väänänen, P. & Piironen, V.** 1998. Keskeisten alkutuotantokijöiden ja prosessoinnin vaikutus maidon laatuun. In: *Maidon uudet sovellukset -ohjelman tutkimushankkeiden tiivistel-*

mät. Kotieläintieteen päivät, Helsinki, 26.-27.5. 1998. p. 3–5.

–, **Jaakkola, S. & Huhtanen, P.** 1998. The influence of forage preservation method, concentrate level and propylene glycol on dry matter intake and milk production. *Journal of Dairy Science* 81 (Supplement) 1: 321. (Abstract)

– **& Jokela, M.** 1998. Maidon ureamittauksia kannattaa hyödyntää ruokinnan suunnittelussa ja seurannassa. *Maito ja Me* 9: 26–27.

–, **Jokela, M., Kaustell, K., Huhtanen, P. & Nousiainen, J.** 1999. Association between protein nutrition and reproductive performance in the dairy cow. A review with specific emphasis on protein feeding in Finland. *Agricultural and Food Science in Finland*. (Submitted)

Heran jatkojalostuksen kehittäminen

Heran integroitu jatkojalostus

Liisa Myllykoski¹⁾ & Jorma Sohlo¹⁾

¹⁾ *Oulun yliopisto, Prosessitekniiikan osasto, PL 4300, 90401 Oulu*

Oulun yliopiston prosessitekniiikan osaston tutkimusryhmä on toteuttanut vuosina 1995–1998 laajaa monitieteistä hanketta yhteistutkimuksena pohjois- ja länsisuomalaisten heran tuottajien ja -jalostajien, biotekniikka- ja automaatioyritysten sekä tutkimuslaitosten kanssa osana Maidon uudet sovellukset -tutkimusohjelmaa. Tavoitteena oli kehittää maitoherapohjaisille raaka-aineille ja niiden prosessoinnissa syntyville sivutuotteille integroidusti uudenlaisia jatkojalostusprosesseja käyttäen tuotantomittaan soveltuvia laite- ja automaattioratkaisuja sekä huomioiden tuotteiden käyttösovellukset.

Hankkeessa on kehitetty prosessointiketjuja puhtaan maitohapon tuottamiseksi

herapohjaisella kasvualustalla jatkuvatoimista fermentointia käyttäen. Heran prosessointiketju on käsittänyt heran esifraktioidinnin ultrasuodatuksella, herapermeaatin modifioinnin, maitohapon tuotantoprosessin jatkuvatoimisella fermentoinnilla sekä maitohapon puhdistuksen ja erotuksen. Samanaikaisesti on selvitetty heran proteiinin fraktiointia ja puhdistusta kahdessa erityyppisessä prosessissa.

Osatutkimukset ovat edenneet pääsääntöisesti suunnitellulla tavalla ja prosessikehitystyötä jatketaan kiinteämmin teknologiaa hyödyntävien yritysten ja muiden tutkimusryhmien kanssa jatkohankkeissa. Kehitettyä teknologiaa voidaan soveltaa heran jatkojalostuslaitoksissa.

Avainsanat: fermentointi, hera, heraproteiinit, maitohappo

Herapermeaatin modifiointi

Herapermeaatista pyrittiin valmistamaan fermentoinnin kasvualustaa poistamalla siitä lähinnä kalsiumia, koska se aiheuttaa ongelmia saostuessaan kalsiumfosfaattina kasvualustaa steriloidessa sekä jatkuvatoimisen fermentoinnin aikana. Muiden kivennäisaineiden, kuten magnesiumin, kaliumin, natriumin ja fosforin haluttiin säilyvän kasvualustassa. Yksinkertaisimmaksi ja taloudellisimmaksi herapermeaatin modifiointimenetelmäksi todettiin kalsiumfosfaatin saostus pH- ja lämpökäsittelyn avulla. Herapermeaatin konsentroidi myös lisäsi saostumista. Kalsiumin poisto vaikutti myönteisesti maitohapon tuottoon laboratoriomitan fermentoinneissa (Kananen 1996).

Jatkuvatoimisen fermentoinnin hallinta

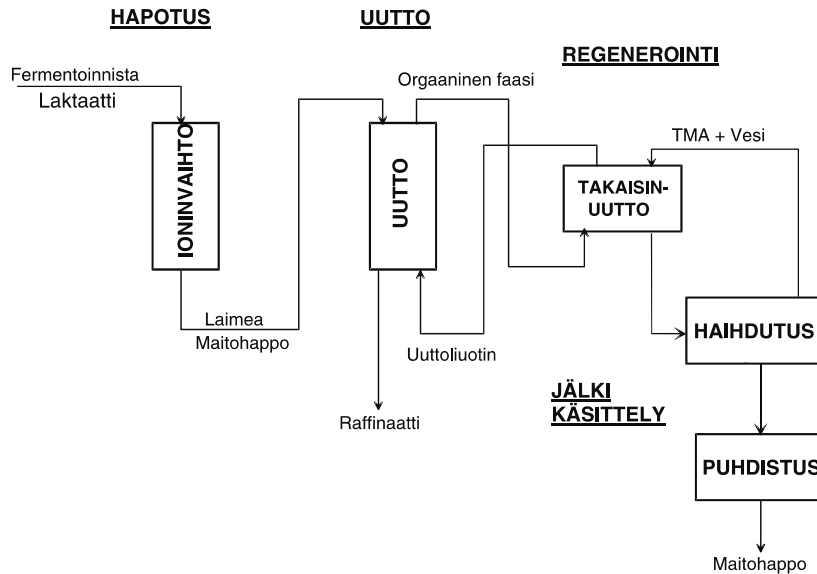
Maitohapon tarjoamia mahdollisuuksia ei vielä voida hyödyntää täysimääräisesti. Fermentoimalla tuotetun maitohapon kilpailukykyä esimerkiksi muoviteollisuuden lähtömonomeerina rajoittaa prosessin kalleus. Sen tehokkuutta rajoittaa tuoteinhibitio, minkä vuoksi maitohappopitoisuudet jäävät alhaisiksi. Matalan tuotekonsentraation ja liuosten kompleksisuuden takia erotus- ja puhdistuskustannukset nousevat korkeiksi. Bioteknisen maitohappotuotannon kannattavuuteen voidaan vaikuttaa periaatteessa seuraavin keinoin: 1) valitsemalla tai muokkaamalla parempia ja kestävämpiä tuotantokantoja, 2) hyödyntämällä halvempia raaka-aineita, 3) kehittämällä tehokkaampia esikäsitelyprosesseja, 4) kehittämällä tehokkaampia jälkikäsitelyprosesseja. Näihin kaikkiin osa-alueisiin on tutkimuksessa pyritty löytämään sopivia ratkaisumalleja.

Prosessiteknikan osastolle on rakennettu jatkuvatoiminen fermentointilaitteisto, joka rakentuu tilavuudeltaan 85 litran sekoitusreaktorin ympärille (Perttunen et al. 1998). Alimman tason automaatio on toteutettu ohjelmoitavalla logiikalla, joka ajaa itsenäisesti kriittisimpiä säätöpiirejä (Kääriäinen 1997). Prosessin operointi ja ylempien tason automaatiotratkaisut on toteutettu PC-pohjaisella valvomo-ohjelmistolla.

Erlaisia laktoosijauheita on käytetty jatkuvatoimiseen laktaatin tuotantoon. Modifioitu herapermeaatti otetaan käyttöön, kun modifiointiprosessi pystytään toteuttamaan pilot-mitassa. Maitohappopitoisuuden, erityisesti L-laktaatin osuuden, kehittymistä on seurattu mahdollisimman suurella sokereiden konversiolla (yli 98 %) pitkäkestoissa kokeissa. L-laktaatin osuus syntyneestä maitohaposta on vaihdellut 85–97 %:n välillä mm. ravinneolosuhteiden mukaan. Yli 90 %:n L-laktaattipitoisuus on hyvä saavutus jatkuvatoimisessa fermentoinnissa.

Keskeisen osan fermentointitutkimusta muodostivat jatkuvatoimisen laktaattifermentointiprosessin tuottavuuteen liittyvien tekijöiden selvittäminen, ravinnelisan koostumus ja kustannusten minimointi, esimointimenetelmien kehittäminen ja trendianalyysi sekä mallipohjaiset säätöratkaisut. Työskentely on mahdollista lähes teollisuusympäristöä vastaavissa oloissa. Maitohappofermentoinnin osalta saavutetut tulokset ovat lupaavia, kun huomioidaan koe-laitteiston koko. Ravinteista erityisesti typpilähteenä käytetty kallis hiivauute vaikuttaa merkittävästi prosessin tuottavuuteen ja bakteerien hyvinvointiin. Lisäravinteina käytetyt suolat ja niiden optimaalinen määrä on selvitetty panoskokeilla.

Jatkuvatoimisen fermentointiprosessin mallinnus ja tilan estimointi (Myllymäki 1997) on ollut yhtenä tutkimuksen kohteena. Panosfermentointikokeiden perusteella on kehitetty NaOH-kulutukseen perustuva tuotekonsentraation estimointimenetelmä jatkuvatoimiselle fermentointiprosessille (Pitkänen 1999).



Kuva 1. Reaktiivinen uuttoprosessi maitohapon erotuksessa.

Automaatiotutkimuksessa kehitettyjä prototyypijärjestelmiä on kuvattu kirjallisuusuviitteissä (Kivikunnas et al. 1996a, b, Kivikunnas 1998). Konversioestimaattorin manuaalisen virittämisen havaittiin olevan erittäin työlästä ja siten rajoittavan soveltuvuutta teollisen prosessin ohjausjärjestelmän osaksi. Tähän perustuen on vertailtu adaptiivisten systeemien toteutustapoja (Lotvonen et al. 1997a, b, Lotvonen 1998). Fermentointiprosessit ovat tyypillisesti hitaita ja niiden ylemmän tason ohjaus tehdään yleensä manuaalisesti. Prosessinohjaajat käyttävät ohjauspäätöksiä tehdessään muuttujien hetkellisarvojen lisäksi niiden trendejä eli mittausaikasarjan viimeisimpien arvojen muodostamaa hahmoa. Prototyypijärjestelmä liitetään jatkuvatoimisen fermentointilaitteiston automaatiojärjestelmään ja sen soveltuvuutta reaaliaikaiseen fermentointiprosessin diagnostiikkaan tutkitaan edelleen vertaillen erilaisten trendianalyysimenetelmien käyttökelpoisuutta automaatiojärjestelmän osana.

Maitohapon erotus ja puhdistus

Maitohappo voidaan erottaa reaktiivisella uutolla selektiivisesti kompleksisestakin liuoksesta (Järvinen 1997). Uuttoprosessilla, jossa laktaattiliuoksen hapotukseen käytettiin kationinvaihtoa sekä uuttolioottimena tertiäärinen amiinin ja pitkäketjuisen alkoholin seosta, saavutettiin hyvä erotusaste ja kokonaistuotto maitohapon suhteen. Regenerointiin käytettiin takaisinuuottoa helposti haihtuvalla emäksisellä liuoksella. Tavoitteena oli poistaa regenerointiliuos väkevöinnin yhteydessä, mutta siinä ei kuitenkaan täysin onnistuttu. Kokeiden perusteella valittu erotusprosessi on esitetty kuvassa 1 (Järvinen 1997).

Kokeet vahvistavat aiemmissä tutkimuksissa saatuja tuloksia pitkäketjuisten amiinien soveltuvuudesta orgaanisten happojen erotukseen. Uutta tietoa saatiin sekundääristen ja tertiääristen amiinien toimivuudesta erityisesti kompleksisissa erotustilanteissa. Fermentointiliuoksen hapotusvaihe todettiin kokeissa sekä tuotepuh-

tauden että tarvittavien erotusvaiheiden kannalta kriittiseksi tekijäksi. Mineraaliha-
pon korvaaminen ioninvaihdolla nosti lop-
putuotteen maitohappopuhtautta sekä vä-
hensi merkittävästi lopputuotteessa olevien
epäpuhtauksien määrää. Regeneroimismen-
netelmistä verrattiin keskeisimpiä, joista
parhaat tulokset saatiin käyttämällä ns.
pH-swing -prosessia.

Prosessitekniikan osastolla on selvitetty
myös maitohapon *in situ* -erotusta fermen-
tointiliemestä (Vahtola 1998). Erotuskus-
tannuksia voidaan pienentää ja samalla te-
hostaa fermentointia erottamalla maito-
happo käymisprosessin aikana. Tutkimuk-
sessa on osoitettu ongelmakohdat toimivien
ratkaisujen kehittämiseksi maitohapon *in
situ* -erotukseen ioninvaihdolla.

Nurmirehun säilöntään ja tuoreen viljan
murskesäilöntään on sovellettu herapohjai-
sia fermentointituotteita (Mikkonen et al.
1999).

Heraproteiinien muuntelu ja fraktiointi

Heraproteiinien muuntelua sulfiittikäsitte-
lyllä, fraktiointitekniologiaa ja prosessoin-
nin hallintamenetelmiä on testattu labora-
torio-oloissa. Prosessia on optimoitu myös
pilot-mitassa. Raaka-aineena on käytetty
pohjoissuomalaisen heranjalostuslaitoksen
heraproteiinikonsentraattia. Tuotettujen he-
raproteiinijakeiden toiminnallisia ominai-
suuksia on testattu yhteistutkimuksena
Maatalouden tutkimuskeskuksen (Elintar-
vikekemian ja -tekniikka) kanssa ja jakeiden
antigeenisyyttä Helsingin Eläinlääkintä- ja
elintarvikelaitoksella (Savolainen et al.
1998). Fraktiointiprosessin eri vaiheet ovat
selkiytyneet. Koska Suomessa ei ole vielä
pystytty fraktioimaan proteiineja tuotanto-
kokoisella prosessilla, on tutkimuksen mer-
kitys tässä suhteessa suuri. Muunnelluilla ja

fraktioituilla heraproteiineilla näyttää ole-
van lähitulevaisuudessa merkittävää poten-
tiaalia monissa elintarvike- ja non food-
käyttökohteissa. Tutkimus- ja kehitystyö-
tä jatketaan yhteistyössä tutkimuslaitosten
ja yritysten kanssa jatkoprojekteissa.

Maidon antimikrobiset tekijät

Tutkimuksessa on kehitetty teolliseen tuo-
tantoon soveltuvat erotus- ja puhdistusme-
netelmät maidon antimikrobisille tekijöille.
Antimikrobisten proteiinien karakterisoi-
miseksi on kehitetty immunologiset määri-
tysmenetelmät. Laktoferriinin määrittämis-
sä käytetään DELFIA- ja RIA-menetelmiä,
jotka perustuvat vuohessa tai kanissa tuo-
tettuihin spesifisiin vasta-aineisiin. Ne ovat
herkkiä, toistettavia ja spesifisiä naudan
laktoferriinille.

Laboratorio- ja bench-mitan puhdistus-
kokeet ja menetelmien optimointi on tehty
ennen pilot-kokeita. Antimikrobisten teki-
jöiden erottamiseksi ja puhdistamiseksi on
suunniteltu, rakennettu ja käyttöönotettu
automaattinen pilot-puhdistuslaitteisto.
Sen automaatiojärjestelmä ja prosessin oh-
jausohjelmisto ovat suoraan sovellettavissa
tuotantomittaan. Prosessikehitysvaiheen ja
koeajojen tulokset ovat hyödynnettävissä
tuotantoprosessien suunnittelussa ja kan-
nattavuuslaskelmissa. Kehitetty prosessi
vaatii aikaisempia menetelmiä vähemmän
yksikköoperaatioita, mikä yksinkertaistaa
ja helpottaa prosessin hallintaa. Puhdistus-
prosessia pystytään hyödyntämään mm.
meijeri- ja bioteknologiategollisuudessa. Me-
netelmällä voidaan erottaa taloudellisesti
arvokkaita proteiinijakeita maitopohjaisista
raaka-aineista. Prosessikehitystyötä ja tuo-
tettujen jakeiden vaikutusten todentamista
jatketaan.

Kirjallisuus

Järvinen, M. 1997. Maitohapon erotus fermentointiliuoksesta reaktiivisella uutolla. Oulu: Oulun yliopisto, Prosessitekniiikan osasto. Diplomityö. 111 p.

Kananen, A. 1996. Heran ultrasuodatuspermeaattin suojojenpoistotekniikat. Oulu: Oulun yliopisto, Prosessitekniiikan osasto. Diplomityö. 96 p.

Kivikunnas, S. 1998. Integration of process trend analysis with interval algebra. In: 6th European congress on intelligent techniques and soft computing, Aachen, 7.–10.9.1998. Aachen, Verlag Mainz, Wissenschaftsverlag. p. 1611–1614. ISBN 3-89653-500-5.

–, **Bergonzini Corradini, M. & Juuso, E.** 1996a. Fuzzy conversion estimation in fermentation control. In: Yliniemi, L. & Juuso, E. (eds.). Proceedings of TOOLMET'96 - Tool environments and development methods for intelligent systems, Oulu, 1.-2.4.1996. Report A No 4. Oulu: University of Oulu, Control Engineering Laboratory. p. 177–186. ISBN 951-42-4397-8, ISSN 1238-9390.

–, **Ibatici, K. & Juuso, E.** 1996b. Process trend analysis and fuzzy reasoning in fermentation control. In: 3rd International workshop on image and signal processing - advances in computational intelligence, Manchester, 4.-7.11.1996. Amsterdam: Elsevier Science B.V. p. 137–140. ISBN 0 444 82587 8.

Kääriäinen, J. 1997. Siemens Simatic S5-95U programmable controller in continuous cell-recycle fermentation pilot. Oulu: University of Oulu, Systems Engineering Laboratory, Report C20. 82 p. ISBN 951-42-4757-4, ISSN 0783-5728.

Lotvonen, S. 1998. Construction and tuning of a fuzzy system with genetic algorithms and linguistic equations. Oulu: Oulun yliopisto, Fysikaalisten tieteiden laitos, Biofysiikka. Pro gradu -työ. 50 p.

–, **Kivikunnas, S. & Juuso, E.** 1997a. Designing and testing a fuzzy estimator. In: Yliniemi, L. & Juuso, E. (eds.). Proceedings of TOOLMET'97 – Tool environments and development methods for intelligent systems, Oulu, 17.–18.4.1997. Oulu: University of Oulu, Control Engineering Laboratory. p.

194–201. ISBN 951-42-4648-9.

–, **Kivikunnas, S. & Juuso, E.** 1997b. Tuning of a fuzzy system with genetic algorithms and linguistic equations. In: 5th European congress on intelligent techniques and soft computing, Aachen, 8.–11.9.1997. Aachen: Verlag Mainz, Wissenschaftsverlag. p. 1289–1293.

Mikkonen, H., Puikkonen, M., Joki-Tokola, E. & Myllykoski, L. 1999. Heran fermentointituotteiden soveltuvuus rehun säilöntäaineiksi. Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisuja. Sarja A 52. Jokioinen: Maatalouden tutkimuskeskus. 20 p. + 1 app. ISSN 1238-9935, ISBN 951-729-539-1. (In press)

Myllymäki, M. 1997. Jatkuvatoinisen fermentointiprosessin mallinnus ja tilan estimointi. Oulu: Oulun yliopisto, Prosessitekniiikan osasto. Diplomityö. 79 p.

Perttunen, J., Kivikunnas, S., Järvinen, M., Myllykoski, L. & Sohlo, J. 1998. Maitohapon jatkuvatoiminen tuotto. In: Ahlfors, K. (ed.). Kotieläintieteen päivät. Helsinki, 26.-27.5.1998. Maaseutukeskusten liiton julkaisu no 924. Helsinki: Maaseutukeskusten Liitto. p. 249–253. ISSN 0789-9661, ISBN 951-808-063-1.

Pitkänen, T. 1999. Epäsuorien mittausten käyttö tuotekonsentraation määrittämisessä ja tilan estimoinnissa jatkuvatoimisessa fermentoinnissa. Oulu: Oulun yliopisto, Prosessitekniiikan osasto. Diplomityö. 80 p. (In press)

Savolainen, J., Kananen, A., Mäkinen, J., Perttilä, U., Myllykoski, L. & Pihlanto-Leppälä, A. 1998. Influence of chemical modification of whey protein conformation on hydrolysis with pepsin and trypsin. In: NorFa sponsored workshop: Milk proteins: Structure and functional properties. Naantali, 28.-30.11.1998. Jokioinen: Maatalouden tutkimuskeskus. 1 p. (Abstrakti)

Vahtola, K. 1998. Maitohapon in situ -erotus fermentointiliuoksesta ioninvaihdolla. Oulu: Oulun yliopisto, Prosessitekniiikan osasto. Diplomityö. 105 p.

Hankkeen muita julkaisuja

Isomäki, R., Rasi, S., Myllykoski, L., Pudas, J. & Leppäluoto, J. 1998. Immunological assay methods for bovine lactoferrin. Poster. TEKES/Uudistuva Elintarvike -teknologiaohjelma. Vuosisemi-

naari 6.5.1998. Helsingin Messukeskus

Kivikunnas, S., Helakorpi, P., Hooli, K. & Myllykoski, L. 1996. Heran integroitu jatkojalostus: Jat-

kuvatoiminen solukierrätysfermentointi. In: Maidon uudet sovellukset: MAIUS-seminaari, Jokioinen, 14.5.1996. (Lyhennelmät). 1 p.

Perttunen, J., Kivikunnas, S., Kananen, A., Hoo-

li, K., Järvinen, M., Myllykoski, L. & Sohlo, J. 1997. Maitohapon tuotto ja puhdistus. In: Maidon uudet sovellukset: MAIUS-seminaari, Medipolis Center, Oulu, 23.5.1997. Oulu: Oulun yliopisto. (Lyhennelmät). 2 p.

Juustoheran proteiinien eristäminen suodatustekniikalla

Tuomo Tupasela¹⁾ & Hannu Korhonen¹⁾

¹⁾ *Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen*

Tutkimushankkeen tavoitteena oli kehittää juustoheran proteiinien eristämistä ja käyttää uusia meijeriteknologioita sekä fraktioituja ja modifioituja heraproteiineja uusien tuotteiden kehitykseen. Tutkitut herat olivat teollisesti tuotettua juustonvalmistuksen sivutuotteina syntyvää edam-, emmental- ja raejuustoheraa. Tutkimuksessa havaittiin suodatustekniikan soveltuvan edam-, emmental- ja raejuustoheran proteiinien eristämiseen ja suodatustekniikalla eristettiin edamherasta pääasiallisesti α -laktalbumiinia

ja/tai β -laktoglobuliinia sisältäviä proteiinifraktioita. Sekä proteiinifraktioita että suodatustekniikkaa käytettiin hyväksi muissa Maatalouden tutkimuskeskuksen Elintarvikkeiden tutkimusyksikön herätutkimushankkeissa. Emmental- ja raejuustoherasta suodattamalla saatuja proteiinipitoisia jakeita hyödynnettiin herajuomien tuotekehitystyössä. Herajuomien reseptejä kehitettiin ja valmistetut tuotteet testataan kuluttajatutkimuksissa.

Avainsanat: fraktiointi, juustohera, suodatus

Johdanto

Euroopan unionin hygieenisesti korkealaatuisinta maitoa tuotetaan Suomessa. Tästä maidosta valmistetaan ensiluokkaisia, lukuisat kerrat maailmalla kultaisin mitalein palkittuja juustoja. Näiden kultamitalijuustojen sivutuotteena syntyy noin 900 miljoonaa litraa juustoheraa. Hyvälaatuisen maito on myös herajalosteiden kuten juustonvalmistuksenkin ehdoton raaka-aine. Hera sisältää pääasiassa laktoosia, mutta siinä on myös biologisesti ja ravitsemuksellisesti arvokkaita heraproteiineja, vitamiineja sekä kivennäis- ja hivenaineita (Tupasela 1997a, Tupasela & Korhonen 1998a). Tällä hetkellä puolet Suomessa tuotetusta herasta käytetään rehuteollisuudessa eläinrehujen valmistukseen ja noin 400 miljoonaa litraa heraa käytetään elintarviketeollisuuden raaka-aineena, lähinnä leipomo- ja einesvalmistuksessa. MTT:n Elintarvikkeiden tutkimusyksikössä on tehty jo kymmenen vuoden ajan juustoheraan ja sen proteiineihin liittyvää tutkimusta (Rantamäki et al. 1996, Pihlanto-Leppälä et al. 1996a, b, Tupasela et al. 1997, Tupasela & Vasara 1998, Tossavainen et al. 1998, Rantamäki et al. 1998).

Heran käyttömahdollisuuksia muuhun kuin rehuksi lisäävät uudet meijeriteknologiat, mm. mikro-suodatus (MF), ultrasuodatus (UF), nanosuodatus (NF) ja käänteisosmoosi (RO). Nämä tekniikat mahdollistavat juustoheran eri komponenttien konsentroinnin ja fraktioinnin halutuiksi lopputuotteiksi. Niiden avulla juustoherasta voidaan eristää mm. pääkomponentit β -laktoglobuliini (β -lg), α -laktalbumiini (α -la), immunoglobuliinit, kaseiinimakropeptidi, laktoferrini ja laktoperoksidaasi. Kalvotekniikkaa voidaan käyttää myös klarifointiin (mikro-suodatus) ja kivennäisainesten poistoon (nanosuodatus) ennen elektrodialyysia ja ioninvaihtoa. Nämä uudet tekniikat lisäävät heran käyttökelpoisuutta elintarvikkeisiin ja erityisravintoval-

misteisiin, koska niillä voidaan eliminoida haitallisia molekyyliä, kuten natrium, tai rikastaa haluttuja yhdisteitä.

Tämän tutkimushankkeen ja siihen liittyvien tuotekehityshankkeiden tavoite oli kehittää juustoheran proteiinien eristämistä ja käyttää uusia meijeriteknologioita sekä fraktioituja ja modifioituja heraproteiineja uusien tuotteiden kehittämiseen yhdessä alan teollisuuden kanssa. Lopullisena tavoitteena on kehitettyjen tuotteiden kaupallistaminen elintarvikeyritysten toimesta.

Aineisto ja menetelmät

Tutkimuksessa käytettiin edam-, emmental- ja raejuustoheraa. Edamhera saatiin MTT:n Elintarvikkeiden tutkimusyksikön omasta koemeijeristä, emmentalhera Lamminkunta Maitomaasta. Juustoherat prosessoitiin MTT:ssa käyttäen perinteisiä heran meijeriprosesseja ja erilaisia suodatustekniikoita (Taulukko 1). Juustoherasta tehtiin sekä kemiallisia että mikrobiologisia analyysejä. Kemiallisissa analyyseissä selvitettiin herojen kemiallista peruskoostumusta (kuiva-aine, tuhka, proteiini, rasva, laktoosi) sekä tehtiin tarkempia FPLC-analyysejä heran ja sen jakeiden proteiinikoostumuksesta. Lisäksi tehtiin kivennäis- ja hivenaine- sekä vitamiinianalyysejä. Jakeiden kokonaisbakteerien ja kolibakteerien määrät tutkittiin mikrobiologisesti. Edamheran tutkimukset keskittyivät pääasiassa proteiinien fraktiointiin. Näiden kokeiden tuloksina saatuja proteiinifraktioita käytettiin hyväksi mm. muissa MTT:n Elintarvikkeiden tutkimusyksikön heratutkimukseen liittyvissä tutkimushankkeissa (Pihlanto-Leppälä et al. 1996a, b, Rantamäki et al. 1996, Rantamäki et al. 1998, Tossavainen et al. 1998). Esikäsiteltyä emmental- ja raejuustoheraa hyödynnettiin mm. heramarjajuomien tuotekehityksessä (Tupasela & Vasara 1998).

Taulukko 1. Tutkimuksessa käytetyt suodatusmenetelmät ja sovellukset.

Suodatusmenetelmät	Edamhera	Emmentalhera	Raejuustohera	Heraproteiinijakeet	Sovellus
MF mikro-suodatus	X	X	X	α -la, β -lg	Herajuomat
UF ultrasuodatus	X	X	X	α -la, β -lg	Herajuomat, leivokset, syötävät kalvot
NF nanosuodatus		X	X	WPC	Herajuomat
RO Käänteisosmoosi	X			WPC	Herajuomat

Tulokset

Tutkimushankkeessa parannettiin juustoheran proteiinien eristämistekniikoita (Outilinen et al. 1996, Pihlanto-Leppälä et al. 1996b, Tupasela et al. 1997, Tossavainen et al. 1998) ja sovellettiin suodatusmenetelmiä sekä tuotettiin heraproteiinijakeita uusien tuotteiden valmistukseen (Tupasela & Vasara 1998). Kuluttajatutkimuksessa on tällä hetkellä neljä heramarjajuomaa. Tästä tutkimushankkeesta on kirjoitettu 21 julkaisua ja pidetty viisi esitelmää. Kirjoituksessa on viitattu osaan julkaisuista. Niiden lisäksi on julkaistu tutkimukseen liittyen (Korhonen et al. 1998a, b, Tupasela 1996, Tupasela 1997b, Tupasela 1998a, b, Tupasela & Korhonen 1997, Tupasela et al. 1996).

Tutkimuksessa havaittiin suodatustekniikan soveltuvan edam-, emmental- ja raejuustoheran proteiinien eristämiseen (Outilinen et al. 1996, Tupasela et al. 1997, Tossavainen et al. 1998). Juustoherojen välillä on kuitenkin eroja prosessikäyttäytymisessä. Suodatustekniikalla eristettiin edamherasta α -laktalbumiinia ja β -laktoglobuliinia sisältäviä proteiinifraktioita. Sekä proteiinifraktioita että suodatustekniikkaa käytettiin hyväksi muissa MTT:n Elintarvikkeiden tutkimusyksikön heratutkimushankkeissa: Bioaktiivisten peptidien tuottaminen ja ka-

rakterisointi, heraproteiinien funktionaaliset ominaisuudet ja käyttösovellukset ja immuunimaitotuotteiden kehittäminen mikrobien aiheuttamien sairauksien ennaltaehkäisyyn ja hoitoon (Pihlanto-Leppälä et al. 1996a, b, Loimaranta et al. 1997, Rantamäki et al. 1998, Tossavainen et al. 1998). Emmental- ja raejuustoherasta suodattamalla saatuja proteiinipitoisia jakeita hyödynnettiin herajuomien tuotekehitystyössä (Tupasela & Vasara 1998). Tehdyt prosessiajot sekä aistinvaraiset ja mikrobiologiset analyysit osoittavat, että herajuomien valmistusprosessi on hallittavissa ja sitä voidaan soveltaa teollisella tasolla. Herajuomien reseptejä kehitettiin ja valmistettuja tuotteita on kuluttajatutkimuksessa.

Tulosten tarkastelu

Tämän tutkimuksen ja siihen liittyvien tuotekehityshankkeiden tavoitteena oli kehittää heran proteiinien eristämismenetelmiä, selvittää niiden soveltuvuutta teolliseen prosessiin sekä kehittää kotimaisia herapohjaisia uusia elintarvikkeita kaupalliseen valmistukseen. Lopullisena tavoitteena oli kehitettyjen tuotteiden kaupallistaminen alan elintarvikeyritysten toimesta. Tutkimuksessa käytetyt edam-, emmental- ja raejuustohera eroavat toisistaan sekä koos-

tumukseltaan että suodatusominaisuuksiltaan. Tulosten perusteella edamheran voidaan sanoa soveltuvan hyvin eri proteiini-fraktioiden eristämiseen. Haittana voidaan kuitenkin pitää kyseisen heran sisältämää nitraattia, jota lisätään juustonvalmistuksen yhteydessä. Haitta tulee varsinaisesti esiin, kun proteiinijakeita käytetään teollisissa elintarvikesovelluksissa. Nitraatti on kuitenkin mahdollista korvata tai se on mahdollista lisätä juustonvalmistusprosessin myöhemmässä vaiheessa (Tupasela 1995). Emmental- ja raejuustohera soveltuvat edamheraa paremmin herajuomien raaka-aineksi, sillä niihin ei ole lisätty nitraattia. Suodatuskokeissa havaittiin eroja emmental- ja raejuustoheran välillä. Raejuustohera soveltuu hyvin suodatukseen, kun taas emmentalhera vaatii enemmän esikäsittelyä ennen lopullista suodatusta. Emmental- ja raejuustoheran suodatuskokeista saatuja proteiinipitoisia jakeita testattiin herajuomissa, joissa ne toimivat hyvin. Testattaessa selvitettiin juomien aistinvaraisia ominaisuuksia MTT:n Elintarvikkeiden tutkimusyksikön aistinvaraisessa laborato-

riossa ja säilyvyyttä sekä huoneen (+20 °C), että jääkaappilämpötilassa (+8 °C). On kuitenkin huomioitava, että proteiinipitoiset juomat vaatinevat oman pakkausprosessinsa, sillä ne vaahtoavat melko herkästi. Kaupallinen valmistus ja tuotteiden markkinatutkimukset ovat parhaillaan käynnissä elintarvikeyrityksissä ja niiden tulokset selviävät vuoden 1999 kuluessa.

Tämä tutkimushanke on osoittanut, että juustonvalmistuksen sivutuotteena syntyvää juustoheraa on mahdollista prosessoida kalvotekniikoilla (MF, UF, NF, RO). Herasta on mahdollista fraktioida α -laktalbumiini, β -laktoglobuliini ja muita proteiinijakeita ja niitä voidaan käyttää uusissa herapohjaisissa elintarvikkeissa, kuten herajuomissa ja sekä bioaktiivisten peptidien lähtöaineena ja funktionaalisia elintarvikkeita varten. Teolliset koeajot osoittivat, että raejuustoheran teollinen prosessi on valmis ja emmentalhera tarvitsee prosessin kehitystä. Tuotteiden tuotekehitystyö ja kaupallistamiseen tähtäävät markkinatutkimukset jatkuvat.

Kirjallisuus

Korhonen, H., Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T. 1998a. The functional and biological properties of whey proteins: prospects for the development of functional foods. *Agricultural and Food Science in Finland* 7: 283–296.

–, Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T. 1998b. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends in Food Science & Technology* 9: 307–319.

Loimaranta, V., Tenovuo, J., Virtanen, S., Marnila, P., Syväoja, E.-L., Tupasela, T. & Korhonen, H. 1997. Generation of bovine immune colostrum against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* and its effect on glucose uptake and extracellular polysaccharide formation by mutans streptococci. *Vaccine* 15(11): 1261–1268.

Outinen, M., Tossavainen, O., Tupasela, T., Koskela, P., Koskinen, H., Rantamäki, P., Syväoja, E.-L., Antila, P. & Kankare, V. 1996. Fractionation of proteins from whey with different pilot scale processes. *Lebensmittelwissenschaft und -Technologie* 29: 411–417.

Pihlanto-Leppälä, A., Koskinen, P., Paakkari, I., Tupasela, T. & Korhonen, H. 1996a. Opioid whey protein peptides obtained by membrane filtration. *Bulletin of the International Dairy Federation* N311: 36–38.

–, Koskinen, P., Paakkari, I., Tupasela, T. & Korhonen, H. 1996b. Biological properties of whey peptides obtained by membrane filtration. In: *Milk proteins, structure and Functional Properties*. NorFA sponsored workshop at the Center for Chemistry and Chemical Engineering, Lund University, Sweden, November 11–12, 1996. 1 p. Abstract.

- Rantamäki, P., Koskinen, P., Tupasela, T. & Vasara, E.** 1998. Use of β -lactoglobulin as ingredient of dessert foam and its effect on the structure. *Proceedings of The IDF Symposium, Vizenza, Italy, 5-6 May, 1997.* p. 233–238.
- , **Tupasela, T. & Vasara, E.** 1996. Gelation of β -lactoglobulin. *Milk protein structure and function. Conference, Wadahl Høgfjellshotell, Norway, 6-8. March. 1996.* Abstract.
- Tossavainen, O., Rantamäki, P., Outinen, T., Tupasela, T. & Koskela, P.** 1998. Functional properties of the whey protein fractions produced in pilot scale processes. *Milchwissenschaft* 53(8): 453–458.
- Tupasela, T.** 1995. Nitrate-free whey and edam cheese of normal quality with added nitrate. *Finnish Journal of Dairy Science* 51: 47–52.
- 1996. Cheese whey proteins isolation with filtration techniques. *ABS, The Finnish Graduate School on Applied Bioscience: Bioengineering, Food & Nutrition, Environment, In: The Second Annual Seminar, Summaries of the Thesis Research. University of Helsinki Biocentre, Viikki, December 18-19. 1996.* p. 19.
- 1997a. Juustohera - terveellisempää kuin tiedetään. *Kotitalous* 12: 31–33.
- 1997b. Cheese whey proteins isolation with filtration techniques. *ABS, The Finnish Graduate School on Applied Bioscience: Bioengineering, Food & Nutrition, Environment, In: The Third Annual Seminar, Summaries of the Thesis Research. The Finnish Science Center Heureka, Tikkurila, Vantaa December 9. 1997.* p. 20.
- 1998a. Heraproteiinien funktionaaliset ominaisuudet ja käyttösovellukset. In: *Elintarvikkeiden koostamisen uudet mahdollisuudet : AEL Insko-seminaari 12-13.1.1998 Park Hotel Käpylä, Helsinki. 1–11.* (Moniste).
- 1998b. Juustoherasta uusia elintarvikkeita. In: *Kotieläintieteen päivät 1998. Maaseutukeskusten Liiton julkaisuja 924.* 159–161.
- & **Korhonen, H.** 1997. Juustoheran proteiinien eristäminen suodatustekniikalla. In: *Maidon uudet sovellukset: Maius-seminaari, Medipolis Center, Oulu, 23.5. 1997.* 1 p.
- & **Korhonen, H.** 1998a. Juustoherasta voi valmistaa monia terveysvaikutteisia elintarvikkeita. *Kemia-Kemi* 25(3): 239–243.
- , **Koskela, P., Pahkala, E. & Kankare, V.** 1997. Optimization of centrifugal separation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin. *Agricultural and Food Science in Finland* 6: 193–198.
- , **Vasara, E. & Korhonen, H.** 1996. Juustoheran proteiinien eristäminen suodatustekniikalla. In: *Maius-Seminaari, Maatalouden tutkimuskeskus, Jokioinen, 14.5. 1996.* Abstract. (Moniste).
- & **Vasara, E.** 1998. Filtrated whey and arctic berries - ingredients for new functional drinks. In: *Preprints of international conference on membrane science and technology (ICMST '98), Beijing, China, June 9-13, 1998.* 137. Abstract.

Heraproteiinien funktionaalliset ominaisuudet ja käyttösovellutukset

Pirjo Rantamäki¹⁾ & Hannu Korhonen¹⁾

¹⁾ *Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen*

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää eri heraproteiinifraktioiden toiminnallisia ominaisuuksia ja niihin vaikuttavia tekijöitä sekä tutkia mahdollisuuksia toiminnallisten ominaisuuksien muunteluun. Lisäksi pyrittiin löytämään heraproteiineille uusia käyttösovelluksia. Pääasiallisesti tutkittiin vaahoutuvuutta, emulgointikykyä ja geelinmuodostusominaisuuksia. Ruoansulatusent-

syymien avulla oli mahdollista muunnella toiminnallisia ominaisuuksia valitsemalla sopiva entsyymi ja reaktioaika. Heraproteiinien havaittiin soveltuvan marjoja ja hedelmiä sisältävien välipala- ja jälkiruoka-annosten valmistukseen. Heraproteiineista valmistettiin myös syötäviä kalvoja ja päällysteitä, joiden avulla voitiin edistää elintarvikkeiden säilyvyyttä.

Avainsanat: α -laktalbumiini, β -laktoglobuliini, heraproteiinit, syötävät kalvot, toiminnalliset ominaisuudet

Johdanto

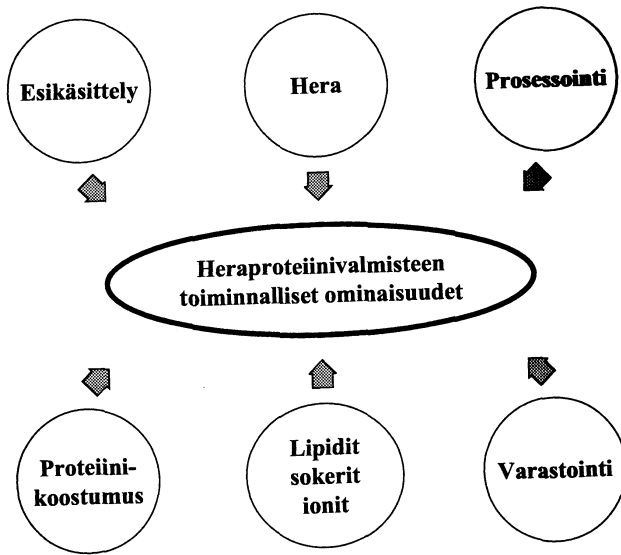
Heraa muodostuu vuosittain suuria määriä juustonvalmistuksen yhteydessä. Huomattava osa jää yhä jalostusasteeltaan alhaiseksi tai kokonaan jalostamatta. Tähän mennessä heran jatkojalostuksessa on keskitytty laktoosiin sekä heraproteiini-konsentraattien, isolaattien ja proteiinihydrolysaattien tuottamiseen (Tupasela & Korhonen 1998). Hera sisältää proteiinia noin 0,7–0,8 %. Määrällisesti tärkeimmät heraproteiinit ovat β -laktoglobuliini, α -laktalbumiini, immunoglobuliinit ja naudan seerumin albumiini (BSA). Korkean ravitsemuksellisen arvon lisäksi proteiineilla on monia käyttökelpoisia toiminnallisia ominaisuuksia, kuten liukoisuus, vaahtoutuvuus, hyvä geeliytyvyys, vedensidonta ja hyvät emulgointiominaisuudet, muunneltava viskositeetti sekä hyvät kalvonmuodostus- ja adheesio-ominaisuudet (Cayot & Lorient 1997, Korhonen et al. 1998).

Heraproteiineilla on käyttöä monissa elintarvikeryhmissä. Hyvä liukoisuus on lähtökohtana muiden toiminnallisten ominaisuuksien hyödyntämiselle. Vaahtoutuvuus on erityisen tärkeä ominaisuus leipomoteollisuuden tuotteissa, samoin geeliytyvyys. Heraproteiiniliuosten matala viskositeetti tekee mahdolliseksi runsaasti proteiinia sisältävien erikoisvalmisteiden tuottamisen. Heraproteiinit ovat viime aikoina saavuttaneet suosiota erityisesti kehonrakentajien keskuudessa (Jelen 1996, Mann 1997). Kuumennuksen aiheuttamaa viskositeetin ja vedensidontan lisääntymistä käytetään hyväksi monissa tuotteissa kuten keitoissa ja kastikkeissa. Heraproteiineja on myös viime aikoina yhdistetty kasvikkunnan tuotteisiin kuten tärkkelykseen ja siten saatu syntymään uusia sovelluksia (Morr & Ha 1993). Heraproteiini-konsentraattien ja isolaattien ominaisuuksia voidaan muunnella eri käyttötilanteisiin sopiviksi (Tossavainen 1996). Heraproteiini-isolaatit, joiden puhtausaste on korkea, ovat olleet 1990-luvulla suuremman mielenkiinnon kohteena teollisuudessa kuin konsentraatit, mutta proteiini-

nipitoisuudeltaan alhaisempien heraproteiini-konsentraattien tuotantokustannukset ovat pienemmät.

Vielä askel eteenpäin ovat yksittäiset eristetyt heraproteiinit tai yhden proteiinin suhteen rikastetut fraktiot, jotka saattavat toimia paremmin ja spesifisemmin tuotteissa kuin valmisteet, jotka sisältävät kaikkia heran proteiineja. Käytetty eristysmenetelmä vaikuttaa myös huomattavasti heraproteiinien toiminnallisiin ominaisuuksiin (Kuva 1). Heraproteiineista β -laktoglobuliinilla on havaittu tähän mennessä olevan eniten sellaisia ominaisuuksia, jotka soveltuvat teollisuuden tarpeisiin (Kinsella & Whitehead 1989).

Molekyylitasolla toiminnallisten ominaisuuksien perustaa tarkasteltaessa useilla heraproteiineilla, α -laktalbumiinilla, β -laktoglobuliinilla ja naudan seerumin albumiinilla (BSA) molekyylin muoto on pallomainen toisin kuin maidossa runsaimmin esiintyvien proteiinien, kaseiinien, joiden molekyyli on avoin ja sisältää vain vähän kiinteää rakennetta (Fox 1989). β -laktoglobuliini esiintyy geneettisesti seitsemänä eri varianttina. Näistä A- ja B-muodot ovat yleisiä länsimaisilla lehmäroduilla ja ne eroavat toisistaan kahden aminohapon suhteen. Tämä pieni muutos saa aikaan huomattavan eron proteiinien toiminnallisuudessa (Huang et al. 1994). β -laktoglobuliinin käyttäytymiseen vaikuttaa myös proteiinin esiintymisen monomeerinä, dimeerinä tai oktameerinä eri pH-alueilla. Käytettäessä α -laktalbumiinia ja β -laktoglobuliinia toiminnallisina proteiineina niiden pallomainen rakenne joudutaan usein avaamaan esimerkiksi lämpökäsittelyllä reaktiivisten ryhmien esillesaamiseksi. Tyypillisesti lämpödenaturatiota tarvitaan geelien ja kalvojen valmistuksessa. Vaahtoutuvuuden ja emulgointiominaisuuksien kannalta on tärkeää, että proteiini pystyy muodostamaan jatkuvan viskoelastisen kalvon ilman ja veden tai öljyn ja veden rajapintaan. Pallomaiset proteiinimolekyylit kuten α -laktalbumiini ja β -laktoglobuliini säilyttävät osan tertiääristä rakennettaan näissä olosuhteissa ja muo-



Kuva 1. Heraproteiinivalmisteen toiminnallisiin ominaisuuksiin vaikuttavat tekijät.

dostavat viskoosin kalvon, jolla on hyvät mekaaniset ominaisuudet (Kinsella et al. 1989).

Kun halutaan muokata eristettyjen proteiinifraktioiden toiminnallisia ominaisuuksia, voidaan 1) valmistaa proteiineista erilaisia johdannaisia esimerkiksi asylaation, esteröinnin tai glykosylaation avulla tai disulfididisidoksia pelkistämällä, 2) käyttää hyväksi lämpökäsittelyä, pH:n muutoksia tai ionien vaikutusta tai 3) käsitellä proteiineja entsyymeillä, esimerkiksi ruoansulatusentsyymeillä tai bakteerien proteaaseilla (Nakai & Li-Chan 1989).

Tämä tutkimus on osa laajempaa MTT:n elintarviketutkimuksen tutkimusprojektia ”Heraproteiinien eristäminen ja uudet käyttöalueet elintarviketeollisuudessa”, jossa pyritään heraproteiinien nykyistä tehokkaampaan hyväksikäyttöön. Tämän tutkimuksen osa-alueet ovat liittyneet perustutkimukseen: 1) toiminnallisten ominaisuuksien mittausten menetelmien kehittäminen, 2) heraproteiinivalmisteen koostumuksen vaikutus toiminnallisiin ominaisuuksiin, 3) entsyymaattisten proteiinihydrolysaattien toiminnallisten ominaisuuksi-

en selvittäminen ja 4) plasteiniireaktioiden tutkiminen heraproteiineilla ja käytännön sovelluksiin kuten uusien tuotteiden kehittämiseen ja niiden ominaisuuksien testaamiseen.

Aineisto ja menetelmät

Tutkimusmateriaalina käytettiin MTT:n Elintarvikkeiden tutkimusyksikössä toteutetussa hankkeessa ”Juustoheran proteiinin eristäminen suodatustekniikalla” eristettyjä heraproteiinifraktioita sekä kaupallisia valmisteita, joita olivat tuottaneet Juusto Kaira Oy, Valio Oy, Armor Proteines, Ranska, New Zealand Milk Products, Uusi-Seelanti ja Sigma, USA.

Tuotteiden valmistus, toiminnallisten ominaisuuksien mittausten menetelmät, aistinvaraisen arvostelun menetelmät ja proteiinihydrolyysien suoritus on kuvattu yksityiskohtaisesti aiheesta laadituissa julkaisuissa ja opinnäytetöissä. Ne on lueteltu kirjallisuusluettelossa.

Tulokset

Heraproteiinifraktioiden toiminnalliset ominaisuudet

Yhteistyössä Valion kanssa tutkittiin koostumukseltaan erilaisten heraproteiinifraktioiden vaahtoutuvuutta ja geeliytyvyyttä sekä todettiin erityisesti β -laktoglobuliinimäärän suhteellisen osuuden olevan tärkeän. MTT:n elintarvikkeiden tutkimusyksikössä tuotetuilla α -laktalbumiinilla ja β -laktoglobuliinilla todettiin olevan erityisen hyvät vaahtoutuvuusominaisuudet. Vaahtoutuvuuden määrittämismenetelmiä tutkittiin ja kehitettiin menetelmä, joka vaati huomattavasti vähemmän proteiinia kuin aikaisempi versio. β -laktoglobuliinifraktiosta valmistetun vaahdon todettiin kestävän sekä suuren sokerilisäyksen että kuumennuksen (Rantamäki et al. 1998). pH:n ja lämpötilan muutoksella pystyttiin voimakkaasti lisäämään vaahdon määrää ja kestävyyttä pääosin β -laktoglobuliinia sisältävässä heraproteiinivalmisteesta.

Kaksiarvoisten kationien, Mg^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} ja Cu^{2+} vaikutusta BSA:n lämpödenaturoituvuuteen ja geeliytyvyyteen selvitettiin yhteistutkimuksessa Mississipin yliopiston kanssa. Suurin käytetty kationikonsentraatio (10 mM) alensi joissakin tapauksissa voimakkaasti transitioentalpiaa. Suuri Cu^{2+} -pitoisuus vähensi geeliytyvyyttä, kun taas Zn^{2+} :n läsnäolo lisäsi merkittävästi geelin vahvuutta.

Heraproteiinivalmisteiden toiminnallisten ominaisuuksien entsyymaattinen muuntaminen

Sekä normaaliherasta että terniherasta eristettyjä proteiineja hydrolysoitiin käyttäen ruoansulatusentsyymejä, pepsiniä ja trypsiiniä, kasviperäistä papaiinia ja bakteerien proteaaseja. Hydrolysaatin peptidit jaettiin kokoluokkiin kalvosuodatuksen avulla. Sekä kokonaishydrolysaatin että peptidiluokkien toiminnallisia ominaisuuksia tut-

kittiin. Vaahtoutuvuus ja geeliytyvyys olivat ne ominaisuudet, joihin oli helpointa vaikuttaa. Rajoitettu hydrolyysi ruoansulatusentsyymeillä vaikutti positiivisesti molempiin ominaisuuksiin sekä terniheran että normaaliheran proteiineilla (Korhonen et al. 1996). Reaktio oli kuitenkin erilainen eri proteiinifraktioilla. Geeliytyvyys voitiin myös tehokkaasti poistaa entsyymikäsitteilyllä. Heraproteiinien plasteinisynteesillä oli positiivinen vaikutus emulgointikapasiteettiin. Testatut bakteerien proteaasit eivät vaikuttaneet merkittävästi tutkittuihin toiminnallisiin ominaisuuksiin.

Tuotteet

Heraproteiineja käytettiin korvaamaan kermaa, kokomunaa tai munanvalkuaista marjoja tai hedelmiä sisältävissä jäädykkeissä, sorbeteissa, pehmeäjäätelöissä sekä marungeissa. Useat tuotteet arvosteltiin maultaan hyväksi ja jotkut jopa alkuperäistä tuotetta paremmiksi, kun muna oli korvattu kokonaan heraproteiinilla (Eriksson 1997).

Heraproteiinikonsentraateista, isolaateista ja β -laktoglobuliinifraktioista onnistuttiin valmistamaan maultaan neutraaleja ja läpikuultavia syötäviä kalvoja ja päällysteitä. Päällysteet saatiin kiinnittymään taiseesti mallielintarvikkeiden pintaan ja niiden avulla kyettiin estämään tuotteiden kuivumista ja vanhenemista. Tästä aiheesta toteutettiin yhdessä VTT:n kanssa erillinen projekti vuonna 1996 ”Aktiiviset syötävät päällysteet” (Myllärinen et al. 1997). Vuonna 1998 osallistuttiin yhdessä VTT:n kanssa projektiin ”Elintarvikkeiden uusien valmistustekniikoiden hyväksyttävyyttä”, jossa tutkittiin kuluttajien asenteita mm. syötävään kalvoihin. Kalvojen mikrobiologisesta laadusta on tehty opinnäytetyö (Tuominen 1999), jossa löydettiin menetelmiä, joilla kalvon mikrofloora voidaan pitää alhaisena elintarvikkeen säilytyksen aikana.

Työn loppuvaiheessa suoritettiin esikokeina alkaville tutkimuksille heraproteiinin mikrokapselointikokeita. Tulokset olivat rohkaisevia.

Tulosten tarkastelu

Heraproteiineilla on monia käyttömahdollisuuksia elintarvikkeiden valmistuksessa sekä proteiinilähteenä erikoisruokavalioissa että tavanomaisessa käytössä juomissa, leipomoteollisuudessa, maitoa perinteisesti sisältävissä tuotteissa ja majoneeseissa, keitoissa ja kastikkeissa. Heraproteiineja ja marjoja tai hedelmiä sisältävissä tuotteissa yhdistyvät heraproteiinien hyvä ravintoarvo sekä marjojen ja hedelmien terveydelle tärkeät yhdisteet, esimerkiksi flavonoidit. Tässä tutkimuksessa tehdyt kokeet antavat tietoa myös siitä, missä tuotteissa herasta löydettyjä biologisesti aktiivisia yhdisteitä voisi hyödyntää tuotekehityksessä. Tulevaisuuden haasteena on kyetä yhdistämään tuotteessa esimerkiksi bioaktiivisten peptidien biologiset ja fysikokemialliset toiminnalliset ominaisuudet kuluttajaa tyydyttäväksi kokonaisuudeksi. Non food -tuotteissa hyvät geelityvyys-, emulgointi- ja vaahtoutuvuusominaisuudet voivat tarjota käyttöalueita heraproteiineille esimerkiksi kosme-

tiikkateollisuudessa. Mahdollisuuksia on myös nopeasti kasvaneilla lemmikkieläinten ruokamarkkinoilla. Tällä hetkellä heraproteiinit eivät ole saavuttaneet sitä käyttölaajuutta elintarviketeollisuudessa, mikä niillä saattaisi olla. Eräänä syynä on ollut se, että toiminnallisia ominaisuuksia ei ole kyetty prosessissa hallitsemaan ja pitämään tuotteita tässä suhteessa tasalaatuisina. Toiminnallisiin ominaisuuksiin vaikuttavista tekijöistä tiedetään jo paljon, mutta esimerkiksi heraproteiinijakeiden proteiinkoostumuksen vaikutus toiminnallisuuteen vaatii lisätutkimuksia. Prosessista saatavat jakeet eivät koskaan ole puhtaita proteiineja, vaan jonkin proteiinin suhteen rikastettuja ja muilla proteiineilla saattaa olla huomattava vaikutus jakeen toiminnallisuuteen.

Tutkimusprojektissa saavutetut tulokset ovat johtaneet useiden uusien hankkeiden kehittelyyn, joille parhaillaan etsitään rahoitusta.

Kirjallisuus

Cayot, P. & Lorient, D. 1997. Structure-function relationships of whey proteins. In: Damodaran, S. & Paraf, A. (eds.). *Food Proteins and Their Applications*. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, Inc. p. 225–256. ISBN 0-8247-9820-1.

Fox, P.F. 1989. The milk protein system. In: Fox, P.F. (ed.). *Developments in Dairy Chemistry - 4*. London, New York: Elsevier Applied Science. p. 1–53. ISBN 1-85166-368-1.

Huang, X.L., Catignani, G.L., Foegeding, E.A. & Swaisgood, H.E. 1994. Comparison of the gelation properties of -lactoglobulin genetic variants A and B. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 1064–1067.

Jelen, P. 1996. Industrial whey protein concentrates and isolates - properties, functionality, applications. In: *Milk proteins, Structures and Functions*.

Conference, Wadahl Hogfjellshotell, Norway, 6-8. March, 1996. Abstract.

Kinsella, J.E. & Whitehead, D.M. 1989. Proteins in whey: Chemical, physical and functional properties. *Advances in Food and Nutritional Resources* 33: 343–438.

–, **Whitehead, D.M., Brady, J. & Bringe, N.A.** 1989. Milk proteins: Possible relationships of structure and functions. In: Fox, P.F. (ed.). *Developments in Dairy Chemistry - 4*. London, New York: Elsevier Applied Science. p. 55–95. ISBN 1-85166-368-1.

Korhonen, H., Kaunismäki, M. & Rantamäki, P. 1996. Functional properties of bovine colostrum whey protein concentrates. In: *1996 Conference on Pharmaceutical Science and Technology in conjunction with 1996 International Conference on*

Food Science and Technology and 27th Annual Meeting of The Fine Particle Society, Chicago, Illinois, August 6-8, 1996. Abstract.

–, **Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T.** 1998. The functional and biological properties of whey proteins: prospects for the development of functional foods. *Agricultural and Food Science in Finland* 7: 283–296.

Mann, J. 1997. Whey utilization - Part 1. *Dairy Industries International* 62: 17–18.

Morr, C.V. & Ha, E.Y.V. 1993. Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 33: 431–476.

Myllärinen, P., Rantamäki, P., Latva-Koivisto, J. & Ahvenainen, R. 1997. Elintarvikepakkausten minimointi aktiivisilla syötävillä päällysteillä Mahdollisuudet ja haasteet. VTT tiedotteita 1840. Espoo: Valtion teknillinen tutkimuskeskus, 68 p.

Nakai, S. & Li-Chan, E. 1989. Chemical and enzy-

Hankkeen muita julkaisuja

Eriksson, M. 1997. The potential of improving the functional properties of whey protein by hydrolysis and development of whey protein products. Helsinki: Helsinki University of Technology. Master's Thesis. 116 p.

Haque, Z.U., Rantamäki, P. & Korhonen, H. 1996. Impact of cations and detergents on the thermostability of some proteins. Southern Regional Sections of IFT, Southern Association of Agricultural Scientists. 1996 Annual Meeting, Greensboro, NC., February 3-7.

Kaunismäki, M. 1997. Ternimaidon kromatografisen prosessointi ja terniheratiivisteiden toiminnalliset ominaisuudet. Helsinki: Helsingin yliopisto. Pro gradu-tutkielma. 80 p.

Korhonen, H., Kaunismäki, M., Rantamäki, P. & Rokka, T. 1996. Functional properties of bovine colostrum whey protein concentrates and their hydrolysates. Meeting of International Circle of Dairy Research Leaders, Kiel, Germany, 26-27.9.1996. Abstract.

–, **Latva-Koivisto, J. & Rantamäki, P.** 1998. Application of whey proteins as edible coating for hard cheese and cakes. 1998 FSFA Conference, Atlanta, Georgia, June 24-26, 1998. Abstract.

–, **Latva-Koivisto, J. & Rantamäki, P.** 1998. Application of whey proteins as edible coating for hard

cheese and cakes. Book Chapter. Technomic (In press)

Rantamäki, P., Koskinen, P., Tupasela, T. and Vasara, E. 1998. Use of β -lactoglobulin as ingredient of dessert foam and its effect on the structure. In: *Texture of fermented milk products and dairy desserts*. Proceedings of the IDF Symposium, Vicenza, Italy, 5-6 May 1997. Belgium: International Dairy Federation. p. 233–238. ISBN 92-9098-028-2.

Tossavainen, O. 1996. Uudet kalvoprosessit monipuolistavat heraproteiinijauheiden valmistusta. *Keuhittävä Elintarvike* 7: 16–17.

Tuominen, O. 1999. Juuston päällystäminen aktiivisella heraproteiinipäällysteellä. Turku: Turun Ammatti-instituutti. Opinnäytetyö. 22 p.

Tupasela, T. & Korhonen, H. 1998. Juustoherasta voi valmistaa monia terveysvaikuttavia elintarvikkeita. *Kemia-Kemi* 25: 239–243.

–, **Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T.** 1998. Impact of processing on the functionality of bioactive dietary proteins. (In press)

–, **Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T.** 1998. Impact of processing on the functionality of bioactive dietary proteins. (In press)

–, **Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T.** 1998. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends in Food Science & Technology* 9: 307–319.

–, **Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T.** 1998. The functional and biological properties of whey proteins: prospects for the development of functional foods. *Agricultural and Food Science in Finland* 7: 283–296.

–, **Rantamäki, P. & Rokka, T.** 1997. Functionality of bovine colostrum whey protein hydrolysates. 1997 International Conference on Food Science and Technology. Las Vegas, NV, USA, September 3-4, 1997.

Outinen, M., Tossavainen, O., Tupasela, T., Koskela, P., Koskinen, H., Rantamäki, P., Syväoja, E.-L., Antila, P. & Kankare, V. 1996. Fractionation of proteins from whey with different pilot scale processes. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 29: 411–417.

Rantamäki, P. 1995. Functional properties of whey proteins. In: *Milk in nutrition - Effects of production*

and processing factors. Proceedings of NJF/NMR-seminar no. 252., Turku, Finland, January 13-15.1. 1995. Helsinki: University Printing House p. 242-245. ISBN 952-90-6504-3.

– 1998. Sensory and instrumental data in the analysis of dairy desserts. Meeting of the International Circle of Dairy Research Leaders on Sensory and Instrumental Characterization of the Texture and Flavour of Dairy Products at Swiss Federal Dairy Research Institute, Berne, 16-17 April 1998. Abstract.

–, **Haque, Z.U. & Korhonen, H.** 1995. Effect of some divalent cations on denaturation and gelation properties of ovalbumin and bovine serum albumin. 26th Annual Meeting of the Fine Particle Society. Chicago, Illinois. August 24, 1995.

– **& Korhonen, H.** 1996. Heraproteiinien funktionaaliset ominaisuudet ja käyttösovellutukset. In: MAIUS-seminaari, Jokioinen, 14.5.1996. Abstrakti.

– **& Korhonen, H.** 1998. Heraproteiinien eristäminen ja uudet käyttöalueet elintarviketeollisuudessa Osaprojekti: Heraproteiinien funktionaaliset ominaisuudet ja käyttösovellutukset. In: Maidon uudet sovellutukset -ohjelman tutkimushankkeiden tiivistelmät: Kotieläintieteen päivät, Helsingin yliopisto. 26-27.5.1998. Abstrakti.

–, **Koskinen, P., Tupasela, T. & Vasara, E.** 1997. Use of β -lactoglobulin as ingredient of dessert foam and its effect on the structure. In: Symposium on Texture of fermented milk products and dairy desserts. Vicenza, Italy, 5-6.5.1997. Abstract.

– **& Latva-Koivisto, J.** 1996. Milk proteins as materials of edible films and coatings. In: Milk Proteins Structure and Functional Properties, NorFA sponsored workshop, Lund University, Sweden. November 11-12, 1996. Abstrakti.

–, **Latva-Koivisto, J. & Korhonen, H.** 1997. Heraproteiinien toiminnalliset ominaisuudet ja niiden muokkaus. In: Maidon uudet sovellukset MAIUS-seminaari, Oulu, Medipolis Center. 23.5.1997. Abstrakti.

–, **Tupasela, T. & Vasara, E.** 1996. Gelation of β -lactoglobulin. In: Milk proteins, Structures and Functions. Conference, Wadahl Hogfjellshotell, Norway, 6-8. March, 1996. Abstract.

Tossavainen, O., Rantamäki, P., Outinen, M., Tupasela, T. & Koskela, P. 1998. Functional properties of the whey protein fractions produced in pilot scale processes. *Milchwissenschaft - Milk Science International* 53: 453-458.

Betalaktoglobuliinin rakennebiologiset ominaisuudet ja niiden maitoteknologinen ja immunologinen merkitys

Tapani Alatossava¹⁾, Veli-Pekka Jaakola¹⁾, Kirsi Karppinen¹⁾,
Pasi Laajala¹⁾, Hanna-Liisa Malinen¹⁾, Nina Marttinen¹⁾,
Jani Rytönen¹⁾ & Kaija Valkonen¹⁾

¹⁾ *Oulun yliopisto, Kajaanin kehittämiskeskus, Biotekniikan laboratorio,
Salmelantie 43, 88600 Sotkamo*

Maa- ja metsätalousministeriö on tukenut tutkimushanketta ”Betalaktoglobuliinin rakennebiologiset ominaisuudet ja niiden maitoteknologinen ja immunologinen merkitys” vuodesta 1998 lähtien 200 000 mk:lla vuodessa. Hankkeen ensimmäisessä osassa on eristetty lehmän- ja poronmaidon natiivia ja denaturoitunutta β LG:a ja kehitetty menetelmät β LG:n puhdistamiseksi. Preparatiivisella menetelmällä voidaan puhdistaa suuria määriä denaturoitunutta β LG:a ja analyttisellä menetelmällä erittää mikä tahansa maitoproteiini liuosmuodossa ja biologisesti aktiivisena. Hankkeessa on lisäksi eristetty ja karakterisoitu poronmaidon β LG:a.

Hankkeen toisessa osassa on tuotettu polyklonaalisia vasta-aineita kaneissa sekä natiiville että denaturoidulle β LG:lle ja karakterisoitu puhdistettujen immunoglobuliinien (ioninvaihto/affiniteettikromatografia) herkkyyttä ja spesifisyyttä immunoblotting- ja ELISA-menetelmillä (yhteistyössä Tanskan maatalousministeriön kans-

sa, Dr. Brogren). Natiivin β LG:n rakenteen muutoksia lämpödenaturoitumisen funktiona on tutkittu määrittämällä riksidoksien pelkistymistä β LG-molekyylissä kolorimetrisesti, ja optimoitu menetelmä mittaamaan β LG:n denaturoitumista (pelkistymistä).

Kliinisessä tutkimusosassa on selvitetty β LG:n ominaisuuksia ja immuunivastetta potilailla, joilla on maitoallergia. Maitoallergiaryhmä on tutkinut rottaeläinmallilla, voidaanko maitoallergia estää herkistämällä tuberkuliinirokottamisella puolustusso-luja indusoivien solujen aktiviteettia. Tätä tarkoitusta varten on eristetty natiivia ja denaturoitunutta β LG:a, joita on käytetty herkistävänä antigeeneinä. Eläinkoesarja päättyi helmikuussa 1999, minkä jälkeen alkoivat sytokiini- ja IgE-määritykset. Maitoallergiaryhmä on myös kerännyt maitoallergiapotilailta näytteitä, joita on alustavasti karakterisoitu biotekniikan laboratorioissa immunologisesti.

Avainsanat: betalaktoglobuliini, denaturoituminen, maitoallergia, vasta-aine

Tutkimuksen taustaa

Biotekniiikan laboratorion tarkoituksena on ollut tutkia natiivin ja lämpödenaturoidun β LG:n osuutta lehmänmaitoallergiassa. β LG on lehmänmaidon proteiini, jota ei ole äidinmaidossa. Rintaruokinnan päätyttyä lapselle annetaan lehmänmaitopohjaisia äidinmaitokorvikkeita, jotka saattavat aiheuttaa maitoallergiaa noin 1,5 %:lle lapsista (Mäkinen-Kiljunen 1996). Eräs keino β LG:sta johtuvan allergian osoittamiseksi on sen määrittäminen esimerkiksi äidinmaidosta immunologisilla menetelmillä käyttäen spesifisiä vasta-aineita. Toisaalta tarkoituksena on ollut tutkia, miten nestemäisten maitovalmisteiden teknisen prosessoinnin eri käsittelyvaiheet vaikuttavat β LG:n allergeenisuuteen, jotta voisimme eliminoida prosessoinnin aiheuttamat mahdolliset haitalliset vaikutukset. Erilaiset käsittelyt kuten pastörointi, sterilointi, konsentroidi ja kuivaus ovat merkittäviä vaiheita nestemäisten maitovalmisteiden prosessoinnissa. Lämpökäsittelyn aikana β LG:ssa tapahtuu rakennemuutoksia ja proteiini-proteiiniassosiaatioita. Natiivin β LG:n kolmiulotteinen säännöllinen rakenne muuttuu ja uusia anti-geenisia ja/tai allergeenisia molekyylin rakennneosia voi avautua. Tarkoituksena on selvittää, onko näillä muutoksilla osuutta lehmänmaitoallergiassa ja siksi tarvitaan myös uusia spesifisiä ja herkkiä immunologisia ja rakennebiologisia menetelmiä lehmänmaitoallergian tutkimiseksi.

Tutkimushankkeessa kehitetyt menetelmät ja tulokset

Natiivin ja lämpödenaturoidun β LG:n eristäminen ja karakterisointi

Biotekniiikan laboratoriossa on kehitetty hankkeeseen liittyen uusi preparatiivinen kromatografiamenetelmä, jatkuva eluutioelektroforeesi, lehmänmaidon β LG:n natiivin ja lämpödenaturoituneen muodon puhdistamiseksi sekä analyyttinen elektroelutiomenetelmä maidon proteiinien nopeaksi erottamiseksi biologisesti aktiivisessa muodossa (Valkonen et al. 1999a,b). Tietääksemme preparatiivista puhdistusmenetelmää denaturoidulle β LG:lle ei ole aikaisemmin kirjallisuudessa esitetty. Biotekniiikan laboratoriossa on puhdistettu myös natiivina β LG:a ioninvaihtokromatografialla ja määritetty puhdistetun sekä natiivin että lämpödenaturoidun β LG:n molekyylipainot ja isoelektriset pisteet. Näillä menetelmillä on osoitettu β LG:a myös erilaisista maitonäytteistä.

β LG:n lämpödenaturoituminen

Natiivin β LG:n rakenteen muutoksia denaturoitumisen funktiona on tutkittu biotekniiikan laboratoriossa määrittämällä rikkisidoksien pelkistymistä β LG-molekyylissä. β LG:lle on ominaista kysteinihappojen sivuketjut, jotka voivat olla olosuhteista riippuen joko pelkistyneessä tai hapettuneessa rikkisiltamuodossa. Sulfhydryyliryhmien (-SH) detektoinnissa (Ellman 1959) käytettiin 5,5'-ditiobis(2-nitrobensoehappoa) (DTNB), joka reagoi molekyylin kanssa, jossa on SH-ryhmä; DTNB:n rikkisilta katkeaa ja toinen vapautunut ioni muodostaa sidoksen proteiinin esimerkiksi β LG:n sulfhydryyliryhmän rikin kanssa, kun taas toinen vapautunut ioni jää anioniseen muo-

toon, joka on värillinen (detektointi $\lambda=412$ nm) eli jokaista SH-ryhmää kohden vapautuu yksi värillinen anioni, joka voidaan mitata spektrofotometrisesti. Biotekniikan laboratoriossa on tutkittu β LG:n denaturoitumista (90 °C, 30 min.) β LG:n konsentraation funktiona ja todettu, että konsentraation kasvaessa β LG:n SH-ryhmien määrä lisääntyy lineaarisesti lämpödenaturaation aikana (lineaarinen käyrä). Toisaalta on tutkittu β LG:n lämpödenaturoitumista (90 °C) ajan funktiona: SH-ryhmien määrä (β LG:n pelkistyminen) saavutti maksimiarvon 10 minuutissa (eksponentiaalinen käyrä).

Polyklonaalisten vasta-aineitten tuottaminen natiiville ja denaturoidulle β LG:lle

Biotekniikan laboratoriossa puhdistetuille natiiville ja lämpödenaturoiduille β LG-valmisteille on tuotettu kaneissa polyklonaalisia vasta-aineita (Oulun yliopiston koe-eläinkeskus/Eläinlääkäri Jorma Pudas/Ostopalvelut). Näillä vasta-aineilla on identifioitu puhdistettua natiivia ja lämpödenaturoitua β LG:a käyttäen modifioimaamme immunoblotting- (Valkonen et al. 1993) ja entsyymiinliitettyä immunosorbent- (ELISA)-menetelmää (Mariager 1994). Tulokset osoittavat, että tuotetut vasta-aineet ovat herkkiä sekä natiiville että denaturoituneelle β LG:lle. Kontrollina on käytetty kaupallista β LG:lle tuotettua polyklonaalista vasta-ainetta, joka tunnistaa sekä natiivin että denaturoidun β LG:n. Puhdistetuille β LG-preparaateille spesifisiä immunoglobuliineja on puhdistettu käyttäen ammoniumsulfaattisaostusta ja affiniteetikromatografiaa (natiivi ja lämpödenaturoitunut β LG). Biotekniikan laboratoriossa on karakterisoitu puhdistettujen immunoglobuliinien molekyyllipainot, isoelektriset pisteet ja osoitettu, että puhdistetut immunoglobuliinit eivät ristireagoi maidon muiden proteiinien kanssa. Lisäksi on mää-

ritetty niiden herkkyys natiiville ja lämpödenaturoidulle β LG:lle sekä eri tavoin käsiteltyjen maitonäytteiden β LG:lle käyttäen sekä dot-blottingmenetelmää että modifioitua ELISA-menetelmää. Tutkimuksen kuluessa on myös osoitettu, että näitä puhdistusmenetelmiä (Valkonen et al. 1999a,b) voidaan käyttää natiivin β LG:n geneettisten varianttien erottamiseen. Tietomme mukaan biotekniikan laboratoriossa kehitetty denaturoidun β LG:n puhdistusmenetelmä (Valkonen et al. 1999a), on ainoa julkaistu menetelmä, jolla on mahdollista eristää denaturoitunutta β LG:a preparatiivisesti, koska denaturoitunut β LG geelytyy esimerkiksi ioninvaihtopylväessä.

Kliininen maitoallergiatutkimus

Oulun yliopiston lastenklinikan maitoallergiatyöryhmän (Dos. Jorma Kokkonen/LKT Olavi Linna/Ihotautien erikoislääkäri Aila Niinimäki/Nuorempi tutkija Hanna Juntti) kanssa biotekniikan laboratorio on käynnistänyt kesäkuussa 1998 yhteistutkimuksen, jonka tarkoituksena on selvittää β LG:n ominaisuuksia ja immuunivastetta potilailta, joilla on atooppinen ihottuma tai ruoka-aineallergia. Tätä tarkoitusta varten pyritään kehittämään sellainen eläinmalli (rotat), jolla tutkitaan, voidaanko maitoallergia estää herkistämällä tuberkuliinirokottamisella Th1-solujen (puolustusoluja indusoivat solut) aktiviteettia. Tätä yhteistutkimusta varten biotekniikan laboratoriossa on eristetty ja karakterisoitu natiivia ja denaturoitunutta β LG:a, joita käytetään herkistävinä antigeeneina. Tätä eläinmallia on tutkittu noin 60 rotalla (natiivi/denaturoitunut β LG ja kontrollieläimet). Eläinkoesarja päättyi helmikuussa 1999, minkä jälkeen alkoivat sytokiini- ja IgE-määritykset. Maitoallergiaryhmä on myös kerännyt maitoallergiapotilailta näytteitä, joita on alustavasti karakterisoitu biotekniikan laboratoriossa immunokemiallisesti.

Tutkimusprojekti on ollut osittain yhteistyö Dr. Carl-Henrik Brogrenin ja hänen

työryhmänsä (Tanskan maatalousministeriö) kanssa, josta biotekniikan laboratorio on saanut polyklonaalista vasta-ainetta natiiville β LG:lle kontrollivasta-aineeksi ja yksityiskohtaiset tiedot heidän kehittämästään herkistetyistä ELISA-menetelmästä natiivin β LG:n mittaamiseksi (Mariager 1994, Mariager et al. 1994) sekä β LG:n antigeenisten determinanttien osoittamiseksi (Hede & Helnov 1993).

Poronmaitotutkimus

Biotekniikan laboratoriossa on eristetty myös poronmaidon β LG:a. Tarkoituksena on selvittää, onko poronmaidon β LG vähemmän allergeeninen kuin lehmänmaidon β LG (Yhteistyöprojekti: Mauri Nieminen, Porotutkimusasema, Kaamanen ja Oystein Holland, Norjan Maatalousministeriö). Biotekniikan laboratoriossa on osoitettu, että poronmaidon natiivin β LG:n molekyylipaino, isoelektriset pisteet ja N-terminaalinen aminohapposekvenssi ovat osittain erilaiset kuin lehmänmaidon β LG:lla. Polyklonaalinen vasta-aine, jota on tuotettu natiiville lehmänmaidon β LG:lle tunnistaa myös poron β LG:n, joten niillä on yhteisiä antigeenisia sitoutumiskohtia. Tästä osasta tutkimusprojektiä on valmistumassa pro gradu -tutkielma, jonka kokeellinen osa on jo suoritettu (biokemian opiskelija Jani Rytkönen, Kuopion yliopisto).

Pohjoismaiseen yhteistyöprojektiimme liittyen FM Päivi Soppela (Arktinen Keskus, Lapin yliopisto) on saanut apurahan (NORFA, Oslo, Norja, 6 kk) tutkiakseen poronmaidon koostumusta, proteiineja ja rasvahappoja professori Bengt Björkstenin laboratoriossa (Linköpingin yliopisto, Ruotsi). Biotekniikan laboratorio on myös sopinut yhteistyöstä professori Jean-Michel Walin kanssa (INRA-CEA, Laboratoire Immuno-Allergie, Pariisi, Ranska). Professori Wal on jo pitkään tutkinut maitoallergiaa ja on tähän tutkimukseen liittyen tuottanut mm. lehmänmaidon rekombinantti- β LG:a sekä n. 70 monoklonaalista vasta-ainetta

lehmänmaidon natiivin β LG:n eri rakenne-domeeneille (Chatel et al. 1996). Nämä vasta-aineet ovat välttämättömiä karakterisoitaessa β LG:n osuutta maitoallergiassa.

Tutkimustulosten hyödyntäminen

Koko tutkimushankkeen tavoitteena on saada tietoa β LG:n rakennebiologisista ominaisuuksista erityisesti lämpödenaturoitumiseen liittyen ja soveltaa saatua tietoa ja menetelmiä selvittäessä natiivin ja lämpödenaturoituneen β LG:n kliinistä ja immunologista merkitystä lehmänmaitoallergiaan sekä selvittäessä β LG:n lämpödenaturoitumisen osuutta lehmänmaitoallergiaan käytettäessä esimerkiksi pastörointia, homogenisointia ja UHT-käsittelyä valmistettaessa teollisesti nestemäisiä maitovalmisteita. Biotekniikan laboratoriossa on tutkittu β LG:n rakenteen muutosta lämpödenaturation funktiona. Saatavaa tutkimustietoa voidaan soveltaa eliminoitaessa haitallisia vaikutuksia esimerkiksi minimoitaessa näistä maidonkäsittelyistä mahdollisesti aiheutuvia immunologisia, laadullisia ja fysiologisia haittavaikutuksia nestemäisissä maitovalmisteissa ja toisaalta eliminoitaessa teknologisia haittavaikutuksia (proteiinien aggregoituminen, proteiini-kompleksien muodostuminen, UF-membraanien tukkeutumisilmiö jne.). Fysikaalisilla menetelmillä saadaan kuitenkin yleensä vain globaalia tietoa proteiinin rakenteen muuttumisesta, kun taas immunologisilla menetelmillä voidaan kartoittaa ne proteiinin rakennedomeenit kuten antigeeniset determinantit, jotka vastaavat tietystä toiminnasta esimerkiksi vasta-aineen sitoutumisesta antigeeniproteiiniin. Kaikesta β LG:a koskevasta tutkimuksesta huolimatta vielä ei ole käytettävissä sellaisia immunokemiallisia menetelmiä esimerkiksi kaupallisia kittejä, joilla voitaisiin mitata β LG:n lämpödenaturoitumisastetta ja β LG:n lämpö-

denaturoitumisen immunogeenisiä vaikutuksia luotettavasti. Tämä johtuu erityisesti siitä, että ne menetelmät, joita on yleisesti käytetty β LG:n puhdistamiseksi (Hambling et al. 1992), eivät ole olleet riittävän spesifisiä tuottamaan joko puhdasta, natiivia β LG:a tai lämpödenaturoitua β LG:a. Näillä menetelmillä tuotetut β LG-preparaatit antigeeneina tuottavat täten vasta-aineita, joiden spesifisyyttä natiivin ja lämpödenaturoituneen β LG:n suhteen ei ole selvitetty. Samoin antigeeni-preparaattien epäpuhtaudet aiheuttavat antiserumeilla ristireaktioita muiden maidon proteiinien kanssa ja nämä mahdolliset ristireaktiot ovat usein jääneet julkaistuissa tutkimuksissa karakterisoimatta ja kontrolloimatta. Toisaalta β LG:n denaturoimiseen käytetyt menetelmät perustuvat kemialliseen modifiointiin (esim. Hattori et al. 1993) eivätkä näillä tuotetut vasta-aineet välttämättä ole spesifisiä lämpödenaturoidun β LG:n antigeenisille determinanteille. Biotekniikan laboratoriossa on tarkoitukse-

na kehittää ELISA-menetelmät, joilla voidaan tunnistaa spesifisesti natiivi ja denaturoitunut β LG, sen immunologisten ja rakennebiologisten ominaisuuksien selvittämiseksi. Tutkimushankkeen laajempaan yleistavoitteena on maidon arvokkaiden funktionaalisten ominaisuuksien säilyttäminen maidonkäsittelyprosessin aikana aina kuluttajalle tuotettuun lopputuotteeseen asti.

Biotekniikan laboratoriossa on kirjoitettu tuloksista kaksi julkaisua (Valkonen et al. 1999a,b). Biotekniikan laboratorion tutkimustuloksista on pidetty myös esitelmä Norfan sponsoroinnissa workshopissa (Alatossava 1998). Tutkimustuloksista on myös tehty pro gradu -tutkielma (Jaakola 1998). Poronmaidon β LG:n eristäminen ja karakterisointi (Jani Rytönen/KY) Työn kirjallinen osa ja käsikirjoitus ovat valmistumassa.

Kirjallisuus

Chatel, J.M., Bernard, H., Clement, G., Frobert, Y., Batt, C.A., Gavalchin, J., Peltres, G. & Wal, J.M. 1996. Expression, purification and immunochemical characterization of recombinant bovine beta-lactoglobulin, a major cow milk allergen. *Molecular Immunology* 33 (14): 1113–1118.

Ellman, G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*: 82: 70–77.

Hede, L. & Helnov, D. 1993. Bovint betalactoglobulin i relation til maelkeallergi og kortlaegning af epitoper. Kobenhavn, Kemisk Institut, Den Kongelige Veterinaer- og Landbohojskole & Institut for Levnedsmiddelkemi og Ernaering, Levnedsmiddelstyrelsen. Pro gradu -tutkielma: p. 1–110.

Hambling, S.G., McAlpine, A.S. & Sawyer, L. 1992. β -Lactoglobulin. In: Fox, P.F. (ed.). *Advanced Dairy Chemistry 1: Proteins*. London: Elsevier Science Publishers, Ltd., p. 141–190.

Hattori, M., Ametani, A., Katakura, Y., Shimizu, M. & Kaminogawa, S. 1993. Unfolding/ Refolding studies on bovine β -lactoglobulin with monoclonal antibodies as probes. *Journal of Biological Chemistry* 268: 22414–19.

Jaakola, V.P. 1998. Lehmänmaidon betalactoglobuliinin mittaaminen immunologisin menetelmin. Jyväskylä, Jyväskylän yliopisto, Bio- ja ympäristötieteiden laitos, Biotekniikka. Pro gradu -tutkielma, 81 p.

Mariager, B. 1994. Modermaelkserstatningers samt human og bovin maelks indhold af allergene maelke-proteiner, specielt betalactoglobulin. Instituttet for Levnedsmiddelkemi og Ernaering, Afdeling for Ernaering, Levnedsmiddelstyrelsen. Sundhedsministeriet, Kobenhavn. Pro gradu -tutkielma, 130 p.

–, **Sölve, M., Eriksen, H. & Brogren, C-H.** 1994.

Bovine β -lactoglobulin in hypoallergenic and ordinary infant formulas. *Food & Agricultural Immunology* 6: 73–83.

Mäkinen-Kiljunen, S. 1996. Detection and characterization of allergens derived from cow's milk and natural rubber latex. Helsinki, Helsingin yliopisto Academic Dissertation, 68 p.

Valkonen, K.H., Ringner, M., Ljungh, Å. & Wadström, T. 1993. High-affinity binding of laminin by *Helicobacter pylori*: Evidence for a lectin-like interaction: FEMS. *Immunology and Medical Microbiology* 7: 29–38.

–, **Jaakola, V.-P., Marttinen, N., Malinen, H.-L. & Alatossava, T.** 1999a. Purification and characterization of β -lactoglobulin genetic variant A and B by using preparative elution electrophoresis and isoelectric focusing. *Bio-Rad Application Note 2262*: 1–4. (In press)

–, **Marttinen, N. & Alatossava, T.** 1999b Separation of betalactoglobulin A and B variant by analytical native electrophoresis followed by electroelution. *Bio-rad Application Note 2302* (In press)

Maitoon perustuvien erikoistuotteiden kehittäminen

Fysiologisesti tuotettu erikoismaito – melatoniinimaito

Maija Valtonen¹⁾ & Merja Voutilainen¹⁾

¹⁾ *Kuopion yliopisto, Soveltavan biotekniikan instituutti, PL 1627, 70211 Kuopio*

Tutkimukset osoittivat, että tavallisissa suomalaisissa tuotanto-olosuhteissa on mahdollista tuottaa ”yömaitoa”, jonka sisältämällä melatoniinilla on yömaitoa pitkään käytetäessä positiivisia vaikutuksia koe-eläinten terveyteen. Lypsyn tulee tapahtua alle 100 luksin valaistuksessa pimeän aikana. Melatoniini säilyy maidossa sitä keitetäessä ja pakastettaessa ja melatoniinia löytyy edel-

leen prosessoiduissa maitotaloustuotteissa. Koska melatoniini kulkeutuu maidossa pääasiassa proteiinien mukana, on mahdollista kehittää tavallista maitoa runsaammin melatoniinia sisältäviä tuotteita. Yömaidon positiiviset vaikutukset tulee vielä osoittaa ihmisellä, jotta sitä voidaan markkinoida terveysvaikutteisena elintarvikkeena.

Avainsanat: lehmä, maito, melatoniini, valaistus

Johdanto

Maidon vielä hyödyntämättömiä mahdollisuuksia ovat maitoon verestä tulevat bioaktiiviset aineet, jotka säätelevät lehmän elintoimintoja ja joilla voi olla merkitystä vasikan kasvuun ja kehittymiseen. Näitä aineita ei ole tähän mennessä hyödynnetty, koska niiden pitoisuudet maidossa ovat vähäisiä eikä niillä ole varsinaista ravitsemuksellista käyttöä. Yksi maitoon siirtyvä aine on aivojen käpylisäkkeestä erittyvä melatoniini (Laitinen et al. 1986), joka säätelee eläinten ja ihmisten vuorokausi- ja vuodenaikaisrytmiä (Reiter 1992). Melatoniinilla on mm. rauhoittava ja siten nukahtamista helpottava vaikutus (Garfinkel et al. 1995). Se myös rauhoittaa suoliston liikkeitä (Weissbluth & Weissbluth 1992) ja tukee elimistön immunologista systeemiä (Nelson et al. 1995) ja sillä on antioksidatiivisia ominaisuuksia (Poeggeler et al. 1993). Melatoniinia sisältävästä maidosta voitaisiin kehittää ns. luonnollinen lääke nukahtamisvaikeuksiin

ja sillä voitaisiin helpottaa vauvojen koliikkikipuja. Elimistön oma melatoniinituotanto vähenee iän karttuessa (Waldhauser et al. 1988) ja ihmisten sairastuvuusalttius lisääntyy, minkä oletetaan johtuvan mm. melatoniinin immunologista systeemiä tukevan vaikutuksen vähenemisestä vanhuk-silla.

Lehmällä kuten muillakin nisäkkäillä melatoniinia erittyy rytmisesti siten, että yöllä erityis lisääntyy ja päivällä se vähenee (Berthelot et al. 1993). Maitoon melatoniini siirtyy helposti, joten yöllä lypsetyssä maidossa on runsaasti melatoniinia ja päivämaidossa melatoniinia on tuskin havaittavissa (Eriksson et al. 1998) (Kuva 1). Suomen pohjoinen sijainti erikoisine valaistusolosuhteineen soveltuisi erinomaisesti melatoniinimaidon (yömaidon, unimaidon) tuottamiseen. Suomi on myös ainoa maa Euroopassa, jossa melatoniinin erittymistä lehmän maitoon on tutkittu (Laitinen et al. 1986, Eriksson et al. 1998). Yömaidon tuottaminen antaa pienellekin tilalle mah-

dollisuuden erikoistuotantoon ja luomumaidon tuottajille tuotevalikoiman laajentamiseen. Suositeltavia kuluttajaryhmiä ovat unirytmihäiriöiset, koliikkivauvat ja vanhukset.

Tavoitteena oli selvittää, onko mahdollista tuottaa tavallisissa maidontuotantolosuhteissa ”yömaitoa”, jonka melatoniinipitoisuus on riittävän korkea, jotta sillä olisi fysiologisia vaikutuksia.

Aineisto ja menetelmät

Melatoniinin erittyminen maitoon MTT:n Pohjois-Savon tutkimusaseman lehmäkannan ja kenttäaineiston avulla selvitettiin vuodenajan, lypsykauden, tuotantovaiheen, lehmärodun ja tuotantotilojen valaistusolosuhteiden vaikutusta maidon melatoniinipitoisuuteen.

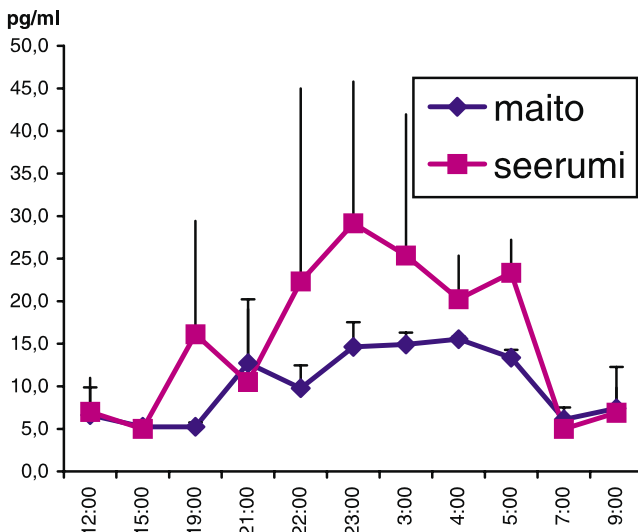
Yöllä lypsetyn maidon pitkäaikaiskäytön fysiologisia vaikutuksia tutkittiin koeläimillä seuraamalla eläinten kuntoa, kliinistä terveyttä, liikunta-aktiivisuutta, sukupuolista vanhenemista ja elinikää. Kokeissa käytettiin siitoksesta poistettuja puolitoistavuotiaita naarasrottia, jotka saivat ainoana juomanaan maitoa. Eläimet jaettiin

kolmeen ryhmään, joista yksi sai rasvattomaksi separoitua yöllä lypsettyä maitoa, toinen sai rasvatonta kaupallista maitoa, johon on lisätty paljon melatoniinia ja kolmas ryhmä toimi kontrollina juoden tavallista rasvatonta maitoa. Koetta jatkettiin eläinten vanhuuteen asti.

Maidon sisältämän melatoniinin antioksidatiivisen vaikutuksen selvittämiseksi seerumin hapettumisalttiutta mitattiin kolmelta erilaista maitoa juovalta rottaryhmältä sekä vettä juovalta ryhmältä. Maitoryhmä joi joko yömaitoa, kaupan rasvatonta maitoa tai rasvatonta maitoa, johon oli lisätty melatoniinia. Tutkimus tehtiin yhteistyössä Kuopion yliopiston kansanterveyden tutkimuslaitoksen kanssa.

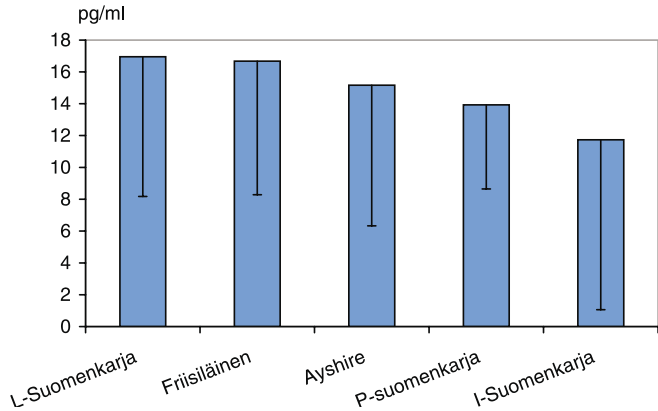
Melatoniinikäyttäytymistä maidossa selvitettiin analysoimalla melatoniinin mahdollinen sitoutuminen maidon eri fraktioihin. Selvityksessä käytettiin radioaktiivista tritiummerkittyä melatoniinia. Samoin selvitettiin melatoniinin säilyminen maidon erilaisissa käsittelyissä ja maitotaloustuotteissa. Tutkimus tehtiin yhteistyössä MTT:n elintarvikkeiden tutkimusyksikön ja Oulun yliopiston kanssa.

Melatoniinianalytiikassa on käytetty maidolle sovellettua RIA (Radio Immuno Assay) -menetelmää, joka on osoittautunut



Kuva 1. Lehmän melatoniinierityksen päiväritys toukokuussa Kuopion leveyspiirillä (63°N). Käyrät kuvaavat neljän lehmän melatoniinierityksen keskiarvoja keskihajontoineen. Maidon melatoniinipitoisuus seuraa seerumin pitoisuutta koko vuorokauden.

Kuva 2. Yömaitonäytteiden melatoniinipitoisuus eri lehmäroduilla. Pylväät kuvaavat rotujen keskiarvoja keskihaarvointineen.



häiriöalttiiksi. Tutkimuksen aikana on käynnistetty korkeapainestekromatografiapohjaisen analytiikan kehittäminen.

laskea, kun valaistus navetassa lehmien silmien tasolla oli yli 100 luksia (Voutilainen et al. 1998). Muutokset maidon melatoniinipitoisuudessa seurasivat muutoksia veressä.

Tulokset

Lehmät melatoniinimaidon tuottajina

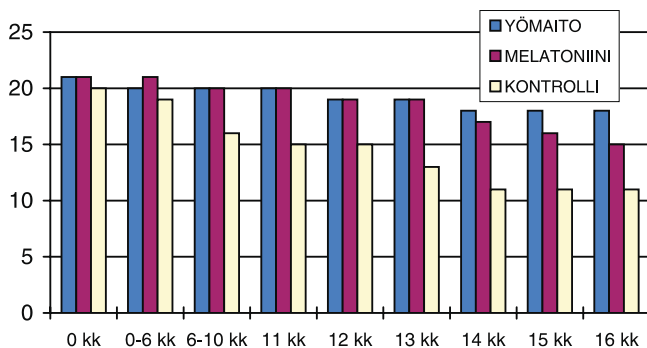
Kaikkiaan tutkittiin yli 250 lehmän aineisto. Lehmät tuottivat melatoniinia maitoon yöllä noin kaksi kertaa enemmän kuin päivällä. Lehmärotujen välillä oli eroja melatoniinituotannossa (Voutilainen & Valtonen 1997) (Kuva 2), mutta lehmien välisen suhteellisen suuren yksilöllisen vaihtelun vuoksi sillä ei ollut merkitystä. Lypsykauden lopulla lehmät erittivät enemmän melatoniinia maitoonsa kuin äskettäin poikineet. Myös syys- ja kevätpoikivien lehmien välillä oli eroa siten, että lypsykauden alussa kevätpoikivat tuottivat enemmän melatoniinia maitoon kuin syyspoikivat, kun taas lypsykauden puolivälissä tilanne oli päinvastainen (Voutilainen & Valtonen 1997). Lypsykauden lopussa maidon melatoniinipitoisuuden ollessa korkea syys- ja kevätpoikivien välillä ei ollut eroa.

Valon voimakkuuden vaikutusta melatoniinin tuotantoon yöllä tutkittiin viidellä suomenkarjan lehmällä lisäämällä asteittain (30, 100, 300, 500 luksia) valon määrää keskiyöllä. Seerumin melatoniinitaso alkoi

Yömaidon käytön pitkäaikaisvaikutukset koe-eläimillä

Puolitoista vuotta kestäneen kokeen aikana yömaitoa ja runsaasti melatoniinia sisältävää maitoa saaneiden rottien paino nousi enemmän kuin kontrolliryhmän rottien. Yöeläimenä rotta on aktiivinen pimeänä vuorokaudenaikana. Yömaitoa ja melatoniinimaitoa saaneet rotat olivat kokeen alkuvaiheessa selvästi vähemmän aktiivisia yöllä kuin tavallista maitoa saaneet rotat (Valtonen 1998). Kokeen edetessä yömaitoa saaneen ryhmän yöllinen aktiivisuus lisääntyi normaalitasolle, kun taas ylimääräistä melatoniinia maidossa saaneen ryhmän aktiivisuus pysyi normaalia alhaisemalla tasolla. Äkilliseen kuolemaan tai lopetukseen johtaneita sairauksia oli eniten tavallista kaupan maitoa saaneella ryhmällä ja vähiten yömaitoryhmällä. Yömaitoryhmän rotat elivät pidempään kuin vertailuryhmä ja runsaasti melatoniinia saaneet (Voutilainen 1998) (Kuva 3). Sukupuolises- sa vanhenemisessa ei ollut eroja ryhmien välillä.

Liikkumisaktiivisuuden objektiivista



Kuva 3. Rottien määrän väheneminen eri ryhmissä kokeen aikana. Kokeen alkuun oli 62, joista 44 oli elossa kokeen loppuessa. Osa eläimistä kuoli spontaanisti ja huonokuntoiset lopetettiin.

analysointia varten tehtiin oma koesarja, jossa erilaista maitoa juovien eläinten liikkuminen rekisteröityi automaattisesti kaupapannassa olevan anturin välityksellä koko vuorokauden ajan. Tulokset tukivat subjektiivista liikkumisaktiivisuuden arviointitulosta.

Yömaidon antioksidanttikapasiteettitutkimuksessa rottien seerumin hapettumisalttius eri ryhmien sisällä vaihteli niin paljon, että ryhmien välille ei saatu eroja. Melatoniinin saanti näytti kuitenkin parantavan rottien seerumin hapettumisenestokapasiteettia verrattuna vettä saavien rottien arvoihin.

Melatoniinin esiintyminen maidon eri fraktoissa

Melatoniini sitoutuu löyhästi proteiineihin ja maidossakin sitä oli eniten proteiinifraktoissa (Kangas et al. 1998). Kaseiini- ja heraproteiinifraktoissa oli kaksi kertaa niin paljon melatoniinia kuin koko maidossa. Hera I:ssä ja rasvassa melatoniinikonsentraatio oli lähes sama ja hera 2:ssa puolet pienempi kuin koko maidossa (Kuva 4).

Pohdinta ja johtopäätökset

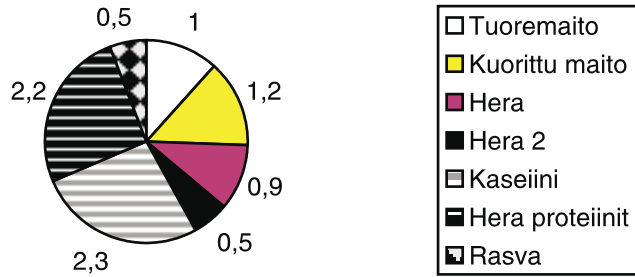
Tehdyt tutkimukset osoittavat, että tavallisissa suomalaisissa maidontuotanto-olosuh-

teissa on mahdollista tuottaa maitoa, joka yöllä lypsettynä sisältää noin kaksi kertaa enemmän melatoniinia kuin päivällä lypsetty maito. Valon voimakkuuden tulee kuitenkin yöllä ja lypsytilanteessa olla alle 100 luksia, koska 100 luksin valaistus vähentää osalla lehmiä seerumin ja maidon melatoniinipitoisuutta. Suositeltava valon voimakkuus yömaidon tuotannossa on ilmeisesti 30–70 luksia, mikä mahdollistaa tarpeellisen hygienian lypsytilanteessa. Koska lehmien melatoniinituotannossa esiintyy voimakkaita yksilöllisiä vaihteluita, tulisi yömaidotuotantoa aloitettaessa tarkistaa yksityyppisen tilan lehmien maidon melatoniinipitoisuus.

Yömaidolla on koe-eläimillä tehtyjen tutkimusten perusteella pitkäaikaisesti käytettynä positiivisia vaikutuksia eläinten terveyteen. Unen määrää, joka mitattiin yöllisen liikkumisaktiivisuuden vähenemisenä, yömaidon käyttö lisäsi alkuvaiheessa noin kahden kuukauden ajan. Tämän jälkeen yömaidolla ei havaittu olevan unettavaa vaikutusta ilmeisesti eläinten tottumisen seurauksena. Noin 100-kertaisella melatoniiniannoksella yömaidon pitoisuuksiin verrattuna unettava vaikutus säilyi kokeen loppuun asti, mutta näin suuri melatoniiniannos pitkäaikaisesti käytettynä heikensi eläinten terveydentilaa. Farmakologisilla annoksilla melatoniinin pitkäaikaiskäyttö on ilmeisesti haitallista, mutta maidon fysiologiset melatoniinipitoisuudet ovat turvallisia ja yömaito ainoana juomana käytettäessä edisti eläinten terveyttä.

Melatoniini säilyi maidossa sitä keitetä-

Kuva 4. Maitofraktioiden melatoniinipitoisuuksien suhteet verrattuna tuoremaidon melatoniinipitoisuuteen. Eri fraktioiden pitoisuudet voidaan laskea, kun selvitetään tuoremaidon melatoniinipitoisuus. Tätä tietoa voidaan käyttää hyväksi prosessoitaessa maitotuotteita.



essä tai pakastettaessa ja melatoniinia löytyi edelleen prosessoiduista maitotaloustuotteista. Maidon eri fraktioiden analyysit osoittivat melatoniinin sitoutuvan osittain maidon proteiinifraktioihin, mikä antaa mahdollisuuden tavallista maitoa runsaammin melatoniinia sisältävien tuotteiden suunnitteluun.

Melatoniinianalytiikassa käytetään nykyään käytännössä yksinomaan RIA:a, joka osoittautui maitoa analysoitaessa häiriöille herkäksi ja yömaidon tuotannon tarkkailussa liian hitaaksi. Tämän tutkimuksen kuluessa käynnistettiin maidolle sopivamman korkeapainenestekromatografiaan perustuvan analyysin kehittäminen. Tutkimusta jatketaan TEKES:in tukemana "Yömaidon tuotekonseptin rakentaminen" -tutkimushankkeena, jossa keskitytään maitoon soveltu-

van melatoniinianalytiikan kehittämiseen, yömaidon parhaiden tuotanto-olosuhteiden selvittämiseen sekä yömaidon jatkuvan käytön positiivisten vaikutusten osoittamiseen ihmisillä, mikä on välttämätöntä yömaidon markkinoimiseksi terveysvaikutteisena elintarvikkeena.

Kirjallisuus

Berthelot, X., Laurentie, M., Ravault, J. P., Ferry, J. & Toutain, P. L. 1990. Circadian profile and production rate of melatonin in the cow. *Domestic Animal Endocrinology* 7: 315–322.

Eriksson, L., Valtonen, M., Laitinen, J.T., Paananen, M. & Kaikkonen, M. 1998. Diurnal rhythm of melatonin in bovine milk: Pharmacokinetics of exogenous melatonin in lactating cows and goats. *Acta veterinaria scandinavica*. 39: 301–310.

Garfinkel, D., Laudon, M., Nof, D. & Zisapel, N.

1995. Improvement of sleep quality in elderly people by controlled-release melatonin. *Lancet* 346: 541–544.

Kangas, A-P., Voutilainen, M. & Valtonen, M. 1998. H³ - melatonin activity in different compositions of milk. X Eläinphysiologian jatkokoulutusseminaari, Mekrijärven tutkimusasema, Joensuun yliopisto, 24.-25.9.1998. Esitelmä ja abstrakti.

Laitinen, J. T., Vakkuri, O., Kotilainen, T. & Alanko, M. 1986. Melatonin secretion patterns in bo-

vine: Large individual variation in serum but not in milk. Program of the XIII Spring Meeting of the Finnish Endocrine Society, Kuopio, 1986, p. 13 (Abstract).

Nelson, R. J., Demas, G. E., Klein, S. L. & Kriegsfeld, L. J. 1995. The influence of season, photoperiod and pineal melatonin on immune function. *Journal of Pineal Research* 19: 149–165.

Poeggeler, B. Reiter, R. J., Tan, D-X., Chen, L-D. & Manchester, L. C. 1993. Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage and aging: A hypothesis. *Journal of Pineal Research* 14: 151–168.

Reiter, R. J. 1992. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews* 12: 151–180.

Valtonen, M. 1997. Yömaito melatoniinin lähteenä. Elintarvikkeiden terveystvaikutukset - trendit, luulot vai tiedot -seminaari, Seinäjoki, 4.9.1997. Esitelmä

– 1998. Yömaito - unimaito. Maito ravitsemuksessa -seminaari, Helsinki, 28.5. 1998. Esitelmä

Voutilainen, M. 1998. Yöllä lypsetty maito melato-

niinin lähteenä. Kotieläintieteen päivät, Helsingin yliopisto, 27.5.1998. Esitelmä.

– **Kangas, A-P. & Valtonen, M.** 1998. Light exposure in the night - changes in blood and milk melatonin concentrations in the cow. X Eläinfysiologian jatkokoulutusseminaari, Mekrijärven tutkimusasema, Joensuun yliopisto, 24.-25.9.1998. Esitelmä ja abstrakti.

– **& Valtonen, M.** 1997. Melatonin in cow's milk; variation between breeds and during different periods of lactation. IX Eläinfysiologian jatkokoulutusseminaari, Konneveden tutkimusasema, Jyväskylän yliopisto, 25.-26.9.1997. Esitelmä ja abstrakti.

Waldhauser, F., Weiszenbacher, G., Tatzer, E., Gisinger, B., Waldhauser, M., Schemper, M. & Frisch, H. 1988. Alterations in nocturnal serum melatonin levels in humans with growth and aging. *Journal of Clinical Endocrine Society* 66: 648–652.

Weissbluth, L. & Weissbluth, M. 1992. Infant colic: The effect of serotonin and melatonin circadian rhythms on the intestinal smooth muscle. *Medical Hypotheses* 39: 164–167.

Immuunimaitotuotteiden kehittäminen mikrobien aiheuttamien sairauksien ennaltaehkäisyyn ja hoitoon

Pertti Marnila¹⁾, Vuokko Loimaranta⁵⁾, Susanna Rokka¹⁾, Jorma Tenovuo⁵⁾, Merja Laine⁵⁾, Eeva-Liisa Syväoja⁴⁾, Leena Rehnberg-Laiho²⁾, Timo Kosunen²⁾, Päivi Kärkkäinen⁵⁾ & Hannu Korhonen¹⁾

¹⁾Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen

²⁾Helsingin yliopisto, Bakteriologian ja immunologian osasto, PL 21,
00014 Helsingin yliopisto

³⁾Helsingin yliopisto, Patologian laitos, PL 21, 00014 Helsingin yliopisto

⁴⁾Valio Oy, Tutkimus ja tuotekehitys, PL 30, 00039 Valio

⁵⁾Turun yliopisto, Hammaslääketieteen laitos, Lemminkäisenkatu 2, 20540 Turku

Tutkimushankkeessa kehitettiin immuunimaitovalmisteita helikobakteerin aiheuttaman mahakattarrin ennaltaehkäisyyn ja hoitoon sekä hammaskarieksen ennaltaehkäisyyn. Hiirillä tehdyissä eläinkokeissa immuunimaidolla onnistuttiin estämään helikobakteeri-infektio. Helikobakteeria ei onnistuttu eradikoimaan hiirten mahasta, mutta immuunimaidon avulla mahan limakalvon tulehdusta pystyttiin lievittämään.

Selvitimme kariesimmuunimaidon vaikutusmekanismeja kariesta aiheuttavia streptokokkeja vastaan. *In vitro* -kokeissa immuunimaito esti tehokkaasti karies-

streptokokkien aineenvaihduntaa ja infektiomekanismien toimintaa mm. estämällä niiden tarttumista hampaan pintaan. Kliinisessä esikokeessa immuunimaitoa suuhuuhteena käyttäneillä koehenkilöillä kariesstreptokokkien osuus oli pienempi hammasplakin mikrobifloorassa ja lepoplakin pH korkeampi kuin verrokkiryhmillä. Kliinisiä jatkotutkimuksia valmistellaan. Olemme kehittäneet edelleen immuunimaidon tuotantoteknologiaa ja suorittaneet menestyksellisesti tehdasmittakaavan tuotantokokeita.

Avainsanat: immuunimaito, karies, mahakattari, ternimaito, vasta-aine

Johdanto

Lehmän ternimaito soveltuu profylaktisten ja terapeuttisten tuotteiden raaka-aineeksi siksi, että se sisältää suuria pitoisuuksia vasta-aineita ja siinä on runsaasti myös muita antibakteerisia yhdisteitä, mm. komplementtiproteiineja ja laktoferriniä. Ternimaidon biologinen tehtävä onkin antaa vastasyntyneelle jälkeläiselle immuunisuoja patogeenisia mikrobeja vastaan. Ternimaidon vasta-aineiden käyttöä ihmisten suojelemiseksi tartunnoilta ja suolistotautien hoitamiseksi tutkitaan tällä hetkellä monissa maissa ja tuotteita on jo tuotu markkinoille (Korhonen et al. 1998). Tällä hetkellä rotavirusimmuunimaitoa myydään Australiassa ja reumaimmuunimaitoa USA:ssa. Uusia tuotteita kehitetään kaupalliseen käyttöön tällä hetkellä myös Uudessa-Seelannissa, Japanissa ja USA:ssa.

Maatalouden tutkimuskeskuksen (MTT) Elintarvikkeiden tutkimusyksikössä on tehty immuunimaitotutkimusta mm. Maidon uudet sovellukset -ohjelmasta saadun rahoituksen turvin. Tutkimuksen tavoitteena on kehittää ternimaitoon perustuvia immuunimaitovalmisteita. Tutkimushanke helikobakteerin aiheuttaman mahakattarrin hoitoon käytettävän immuunimaidon kehittämiseksi käynnistettiin vuonna 1992 Valion tutkimus ja tuotekehityksyksikössä. Hanke siirtyi MTT:n elintarvikkeiden tutkimuslaitokseen vuonna 1994, jossa sitä on jatkettu yhteistyössä Valion sekä Helsingin yliopiston bakteriologian ja immunologian sekä patologian laitosten kanssa. Immuunimaidon kehittäminen hammaskariuksen ennaltaehkäisyyn käynnistettiin syksyllä 1994 yhteistyössä Turun yliopiston hammaslääketieteen laitoksen kariestutkimusosaston kanssa. Vuonna 1996 Valio Oy tuli mukaan hankkeeseen. Tutkimuksista on hyväksytty kuusi artikkelia asiantuntijatarkastettuihin kansainvälisiin julkaisusarjoihin (Korhonen et al. 1995, Loimaranta et al. 1997, 1998a, b, 1999a, Oona et al. 1997) ja seitsemäs on jätetty tarkastettavaksi (Loimaranta et al.

1999b). Kariesimmuunimaidosta on vuoden 1999 aikana valmistumassa Vuokko Loimarannan väitöskirja Turun yliopistossa. Lisäksi tutkimukset ovat olleet esillä monissa kansainvälisissä kongresseissa abstrakteina, postereina ja esitelminä.

Helikobakteeri-immuunimaidon kehittäminen

Taustaa

Helicobacter pylori mullisti 1980-luvun alkupuolella käsityksen mahakattarrista sekä pohjukaissuoli- ja mahahaavasta. Aiemmin näiden sairauksien aiheuttajaa ei tunnettu ja siksi niitä pidettiin pitkälti elämäntavoista aiheutuvina ja osittain psykosomaattisina sairauksina. *H. pylori* elää mahan limakerroksen alla suojassa matalalta pH:lta. Tartuntatapoja ei varmuudella tiedetä. Infektioiden määrä riippuu iästä ja elinympäristöstä. Kehitysmaissa infektiot ovat yleisiä jo varhaislapsuudessa, kun taas teollistuneissa maissa lapsuusiän infektiot ovat harvinaisempia. 20-vuotiaista noin 10 % on infektioituneita ja heitä vanhemmilla infektiot yleistyvät noin prosenttiyksiköllä ikävuotta kohden. Lapsuusikä lienee infektion saamisen kannalta kriittisin ja vanhempien ikäluokkien suuri infektiotilavuus johtuneekin aikanaan lapsuudessa saatujen infektioiden yleisyydestä.

Varmuudella ei tiedetä, miksi vain osa infektioituneista saa gastriitin ja vain 10–20 %:lle infektiota sairastavista kehittyy pohjukaissuoli- tai mahahaava. Krooninen tulehdus ja mahdolliset kudosuutokset, atrofiseen gastriittiin, johtuvat *H. pylorin* kyvystä houkutella valkosoluja mahan limakalvoon ja aktivoimaan ne. *H. pylorin* aiheuttaman atrofisen gastriitin tiedetään olevan mahasyövän riskitekijä. Tilastolaskelmien perusteella on arvioitu, että jopa yli puolet mahasyöpätapauksista voisi johtua helikobakteeri-infektiosta.

Vaikka *H. pylori* onkin herkkä useimmille mikrobilääkkeille *in vitro*, infektion häätäminen on usein vaikeaa. Parhaat hoitotulokset on saatu kolmen tai neljän lääkeaineen yhdistelmähoidoilla, jolloin 60–95 % infektoituneista paranee. Jos helikobakteerikanta on resistentti esimerkiksi metronidatsolille, hoitotulokset ovat usein huonommat. Tämän vuoksi tarvitaan uusia tuotteita antibioottien avulla tehtävien yhdistelmähoitojen tukihoidoksi sekä limakalvon tulehduksen lievittämiseksi.

Tavoitteet

Tutkimushankkeen tavoitteena on immuunimaitovalmisteiden kehittäminen helikobakteerin aiheuttaman mahakatarrin hoitoon.

Immuunimaidon tuottaminen

Lehmän ternimaidon ensimmäiset lypsyt sisältävät poikkeuksellisen suuria pitoisuuksia vasta-aineita, lähinnä IgG:tä. Jos lehmä immunosoidaan jollain tietyllä antigeenillä ennen poikimista, voidaan ternimaitoon tuottaa suuriakin määriä vasta-ainetta tätä antigeeniä vastaan edellyttäen, että nautta kehittää immuunivasteen kyseistä tekijää vastaan. Tutkimushankkeen aikana olemme selvittäneet muun muassa nautan kykyä tuottaa spesifisiä vasta-aineita maitoonsa helikobakteeria vastaan. Vasta-aineiden tuottaminen on onnistunut hyvin sekä kokosolurokotetta käyttäen (Korhonen et al. 1995) että helikobakteerin puhdistettuja pinta-antigeenejä vastaan. Pyrittäessä suuriin vasta-ainepitoisuuksiin immunisointien ajoitus on kokemustemme mukaan yhtä tärkeä tekijä kuin rokotteen koostumuskin. Eri adjuvanteista alumiinihydroksidi on turvallisuutensa ja käyttömukavuutensa vuoksi osoittautunut erinomaiseksi. Sitä

käytettäessä immunisointi ei ole aiheuttanut lehmille komplikaatioita eikä kokemustemme mukaan ole vaikuttanut lehmän tai vasikan myöhempäänkään terveyteen. Kokemuksemme mukaan kriittisin vasta-aineiden tuottoon vaikuttava tekijä näyttäisi olevan lehmän terveydentila immunisoinnin aikana. Tulehdustaudit ja stressi heikentävät selvästi spesifisten vasta-aineiden tuottoa.

Ternimaidon immunoglobuliinifraktion ja muiden antibakteeristen tekijöiden rikastamista ja säilömistä varten olemme kehittäneet kalvosuodatukseen ja kromatografiin perustuvan prosessointimenetelmän. Prosessin päätteeksi tuote kylmäkuivataan, jolloin sen proteiinit säilyvät useita kuukausia biologisesti aktiivisina. Menetelmälle on saatu kansainvälinen patentti (Pat. Int. PCT/FI97/00418).

Helikobakteeri-immuunimaidon teho *in vivo*

Vaikka *H. pylori* onkin herkkä useimmille mikrobilääkkeille *in vitro*, infektion häätäminen mahasta on usein vaikeaa. Siksi *in vivo* -kokeet ovat avainasemassa tutkittaessa eri yhdisteiden tehoa infektion hoidossa. Immuunimaidon tehoa on Suomessa tutkittu aiemmin *H. pylori* -infektiosta kärsivillä ihmisillä kahdessa pienen mittakaavan kliinisessä koesarjassa. Toinen näistä tutkimuksista tehtiin aikuisilla potilailla Helsingin diakonissalaitoksella ja toinen lapsilla Tarton yliopistossa (Tarpila et al. 1995, Oona et al. 1997). Kokeiden tulokset olivat sikäli myönteisiä, että potilaiden koetut oireet ja mahan limakalvosta otetuista koepaloista määritetty tulehdus vähenivät oleellisesti hoidon aikana. Immuunimaidolla ei havaittu haittavaikutuksia kummassakaan kokeessa. Infektiota ei kuitenkaan saatu häädettyä potilailta.

Immuunimaidon vaikutusmekanismien ja annosvasteen tutkimiseksi siirryttiin hiirillä tehtäviin tutkimuksiin. Koe-eläinmalli

teki mahdolliseksi myös tartuntaa ehkäisevän vaikutuksen testaamisen. Saatujen tulosten mukaan immuunimaidolla pystytään estämään kokeellinen infektio hiirissä (Rehnberg-Laiho et al. 1995). Havainto on samansuuntainen monien muiden immuunimaitovalmisteiden tehoa koskevien tutkimusten kanssa. Ternimaidon vasta-aineet ovatkin olleet tehokkaimmillaan nimenomaan virus- ja bakteeri-infektioiden estämisessä, kun taas hoidossa on saatu harvemmin selviä tuloksia (Davidson 1996). Onnistuneissa hoitokokeissa käytetyt vasta-aineiden määrät ovat olleet 3–10 g vuorokaudessa. Hiirillä tekemissämme hoitokokeissa immuunimaidolla oli tilastollisesti merkitsevä helikobakteerin kolonisaatiota ja tulehduksen astetta vähentävä vaikutus (Marnila et al. 1996). Kuitenkaan hoitoajan pidentämisellä tai annoksen kasvattamisella ei onnistuttu häätämään helikobakteeria pois mahan limakalvosta. Nämä tulokset ovat samanlaiset ihmisillä tehtyjen kokeiden tulosten kanssa (Tarpila et al. 1995, Oona et al. 1997). Eräs tärkeimpiä eläinkokeista saatuja tuloksia oli, että spesifisten vasta-aineiden ohella myös terniheran komplementtiproteiineilla on tärkeä osuus hoitotuloksen saavuttamisessa. Vuonna 1998 teimme koesarjan, jossa tutkimme immuunimaidon ja antibioottien mahdollista synergistä vaikutusta. Kokeen tulokset saadaan analysoitua kevään 1999 aikana. Olemme patentoineet helikobakteeri-immuunimaidon Suomessa (Pat. FI-962688) ja myös kansainvälinen patenttihakemus on hyväksytty (Pat. Int. PCT/f197/ 00418).

Johtopäätökset

Saatujen tulostemme mukaan immuunimaidolla voidaan estää helikobakteeri-infektio. Sen sijaan yksin immuunimaidolla ei helikobakteeri-infektiota saada parannetuksi, mutta mahakatarrin oireiden lievittämiseen ja tulehduksen hillitsemiseen se voi soveltua. Jos immuunimaidolla kuitenkin osoittautuisi olevan synergistä tehoa hoi-

dossa käytettyjen antibioottien kanssa, sillä voidaan mahdollisesti saavuttaa etuja helikobakteeri-infektion hoidossa. Tämän toteutukseksi tarvitaan kuitenkin lisätutkimuksia.

Immuunimaitovalmisteiden kehittäminen kariksen ennaltaehkäisyyn

Taustaa

Hammaskaries on prosessi, jossa suuhun kolonisoituneet streptokokit, pääasiassa *Streptococcus mutans*, vaurioittaa hampaan kiillettä tuottamansa hapon avulla ja raivaa näin tien myös muille happoa tuottaville bakteereille hampaan kiilteen läpi. Tämä johtaa krooniseen progressiivisesti etenevään hampaan kudoksen tuhoutumiseen, hammaskarieksen.

Hammaskarieksen syntymisen edellytyksiä ovat kariogeenisten streptokokkien, varsinkin *S. mutansin*, kolonisoituminen suuhun, käymiskelpoisia hiilihydraatteja sisältävä ruokavalio ja henkilön alttius kariekselle. Kaikkia kariesalttiuteen vaikuttavia tekijöitä ei tunneta, mutta syljen koostumuksella ja varsinkin sen sisältämien kariesstreptokokeille spesifisten vasta-aineiden määrällä ja laadulla uskotaan olevan suuri merkitys. Kariesimmuunimaidon idea on poistaa tämä alttius lehmän ternimaidon spesifisten vasta-aineiden avulla.

S. mutans -infektio saadaan varhaislapsuudessa maitohampaiden, varsinkin maitoposkihampaiden, puhkeamisen yhteydessä. Toinen infektioaltis vaihe on hampaiden vaihtumisen yhteydessä. Infektio saadaan yleisimmin perheenjäseniltä, varsinkin äidiltä. Jos infektio ei tapahdu tässä vaiheessa, sen saaminen myöhemmin on hyvin epätoivottavaa. Suun muu mikrobifloora kykenee estämään *S. mutansin* kolonisoitumisen suuhun ja hammaskarieksen syntyedel-

lytykset ovat huonot, vaikka ruokavalio ja muut tekijät sen syntyä suosisivatkin. Suurimmat kariesimmuunimaitoon liittyvät toiveet kohdistuvatkin siihen, että sen toivotaan kykenemään estämään kokonaan *S. mutans*in kolonisoituminen alttiissa vaiheessa olevien lasten suuhun ja näin estämään hammaskarieksen synty mahdollisesti koko elämän ajaksi.

Tutkimuksen tavoitteet

Hankkeen tavoitteena oli kehittää lehmän ternimaidon spesifisiin vasta-aineisiin perustuvia tuotteita karieksen ennaltaehkäisyyn. Osatavoitteita olivat immuunimaidon teolliseen mittakaavaan tähtäävän alkutuotannon ja prosessiteknologian kehittäminen ja tuotteen tehon tutkiminen sekä laboratoriossa että kliinisissä kokeissa.

Kariesimmuunimaidon tuottaminen

Olemme tuottaneet immuunimaitoa kariesta aiheuttavia streptokokkeja vastaan immunisoimalla lehmiä *S. mutans* – ja *S. sobrinus* -bakteereja sisältävällä rokotteella. Olemme saaneet onnistuneesti päätökseen kariesimmuuniternimaidon laajan mittakaavan alkutuotantokokeen. Yhteistyössä Valio Oy:n kanssa olemme muuntaneet immuunimaidon tuotantoprosessin koemittakaavasta tehdasprosessiksi. Tehdasmittakaavan prosessilla pystytään tuottamaan laadultaan lastenruuaksi kelpaavaa immuunimaitoa. Teknologiselle prosessille, jolla spesifiset vasta-aineet rikastetaan ja säilötään aktiivisina, on saatu kansainvälinen patenttisuoja (Pat. Int. PCT/f197/00418). Tehdaskokeiden perusteella on tehty immuunimaidon kustannus- ja tuotoslaskelmat.

Kariesimmuunimaidon vaikutusmekanismit

Turun yliopiston hammaslääketieteen laitoksella tehdyissä tutkimuksissa keskityttiin alkuvaiheessa *Streptococcus mutans* – ja *Streptococcus sobrinus* – bakteereja vastaan tuotettujen vasta-aineiden karakterisointiin ja niiden biologisten vaikutusmekanismien selvittämiseen. Nämä mikrobit ovat tärkeimmät karieksen aiheuttajat ihmisellä.

Immuunimaito on laboratorio-olosuhteissa osoittautunut tehokkaaksi kariesstreptokokkeja vastaan. Se estää kariesstreptokokkien kasvua ja aineenvaihduntaa muun muassa estämällä tahmeiden lipopolysakkaridien tuottoa, joita streptokokit käyttävät pintoihin kiinnittymiseen (Loimaranta et al. 1997). Kokeissa havaittiin, että immuunimaidolla on selvä estävä vaikutus *S. mutans* -bakteerien tarttumiseen hampaiden pinnalle ja että tämä vaikutus on verrannollinen käytetyn immuunimaidon määrään. Kontrollimaidolla ei vastavaa vaikutusta havaittu (Loimaranta et al. 1998a). Havainto on tärkeä siksi, että jos streptokokkien kiinnittyminen hampaiden pintaan voidaan estää myös *in vivo*, ne eivät pysty kolonisoitumaan suuhun. Immuunimaidon vasta-aineiden kyky estää bakteerien tarttumista hampaan pintaan säilyy maitotuotteissa useita kuukausia (Virtanen et al. 1992).

Myös immuunimaidon yhteisvaikutusta syljen omien puolustusmekanismien, lähinnä peroksidaasisysteemin kanssa, on selvitetty. Havaittiin, että immuunimaito ei estä syljessä olevan antibakteerisen peroksidaasisysteemin toimintaa, vaan tietyissä olosuhteissa immuunimaito ja peroksidaasisysteemi voivat toimia jopa synergisesti (Loimaranta et al. 1998b).

Etenkin hampaiden puhkeamisvaiheessa, jolloin kariogeneiset bakteerit tyypillisesti kolonisoituvat hampaan pinnalle, fagosytoivien valkosolujen on ajateltu olevan erityisen tärkeä antibakteerinen puolustusmekanismi. Siksi olemme tutkineet immuuni-

maidon vaikutuksia leukosyyttien kykyyn fagosytoida *S. mutans* -bakteereja. Lehmän vasta-aineiden todettiin opsonisoivan bakteereja tehokkaasti ja ihmisen valkosolujen halukkuus fagosytoida opsonisoituja bakteereja kasvoi moninkertaiseksi (Loimaranta et al. 1999a). Nämä tutkimukset ovat osa FK Vuokko Loimarannan väitöskirjatyötä. Väitöskirja valmistuu vuoden 1999 aikana.

Kariesimmuunimaidon teho *in vivo*

Jotta saataisiin selville, toimiiko kariesimmuunimaito suussa samoin kuin laboratoriotutkimuksissa, tehtiin Turun yliopiston hammaslääketieteen laitoksella vuonna 1998 aikuisilla koehenkilöillä kliininen esikoe, jossa koehenkilöt käyttivät kariesimmuunimaitoa suuhuuhteena kolme kertaa vuorokaudessa kolmen päivän ajan ja pidättyivät samanaikaisesti kaikesta muusta suuhygieniasta. Esikokeen tulokset olivat rohkaisevia sikäli, että immuunimaitoa käyttäneillä koehenkilöillä kariesstreptokokkien osuus oli pienempi hammasplakin mikrobifloorassa ja lepoplakin pH korkeampi kuin verrokkiryhmillä (Loimaranta et al.

1999b). Toisaalta kävi ilmeiseksi, että vasta-aineiden käyttö suuhuuhteena ei ole tehokkain mahdollinen tapa viedä vasta-aineita suuhun. Tämän vuoksi on tehty valmistelevaa työtä kliinisen esikokeen aloittamiseksi aikuisilla koehenkilöillä kariesimmuunimaidon tehon testaamiseksi muissa tuotemuodoissa. Myös alustavia suunnitelmia ja tiedusteluja kliinisen kokeen aloittamiseksi 200:lla noin 6 kk ikäisellä lapsella on tehty. Tämän laajan seurantatutkimuksen tarkoituksena on selvittää, voidaanko kariesimmuunimaidolla estää kariesta aiheuttavien streptokokkien kolonisoituminen suuhun.

Taloudellinen ulottuvuus

Hammaskaries on huomattava kansanterveydellinen ongelma suuressa osassa maailmaa. Uusimpien tutkimusten mukaan karies on myös Suomessa jälleen yleistymässä, varsinkin alle kouluikäisten lasten keskuudessa. Kariesimmuunimaitoon perustuvista tuotteista voi tulla suomalaiselle elintarvikkeita ja suuhygieniatuotteita tuottavalle teollisuudelle uusi merkittävä mahdollisuus saada sijaa myös kansainvälisillä markkinoilla.

Kirjallisuus

Davidson, G. P. 1996. Passive protection against diarrheal disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 23: 207–212.

Korhonen, H., Syväoja, E.-L., Ahola-Luttilla, H., Sivelä, S., Kopola, S., Husu, J. & Kosunen, T. U. 1995. Bactericidal effect of bovine normal and immune serum, colostrum and milk against *Helicobacter pylori*. *Journal of Applied Bacteriology* 78: 655–662.

– 1998. Colostrum immunoglobulins and the complement system - potential ingredients of functional foods. A review article. *Bulletin of the IDF* 336:

36–40.

Loimaranta, V., Carlen, A., Olsson, J., Tenovuo, J. Syväoja, E.-L. & Korhonen, H. 1998a. Concentrated bovine colostrum whey proteins from *Streptococcus mutans/Strep. sobrinus* immunized cows inhibit the adherence of *Strep. mutans* and promote the aggregation of mutans streptococci. *Journal of Dairy Research* 65: 599–607.

– Laine, M., Söderling, E., Vasara, E., Rokka, S., Marnila, P., Korhonen, H., Tossavainen, O. & Tenovuo, J. 1999b. Effects of bovine immune- and non-immune whey preparations on the composition

and pH response of human dental plaque. *European Journal of Oral Science* (Submitted).

–, **Nuutila, J., Marnila, P., Tenovuo, J., Korhonen, H. & Lilius, E.-M.** 1999a. Colostral proteins from cows immunized with *Streptococcus mutans/Srep. sobrinus* support the phagocytosis and killing of mutans streptococci by human leukocytes. *Journal of Medical Microbiology*. In press.

–, **Tenovuo, J. & Korhonen, H.** 1998b. Combined inhibitory effect of bovine immune whey and peroxidase-generated hypothiosyanate against glucose uptake by *Sreptococcus mutans*. Short communication. *Oral Microbiology and Immunology* 13: 378–381.

–, **Tenovuo, J., Virtanen, S., Marnila, P., Suhonen, J., Syväoja, E.-L., Tupasela, T. & Korhonen, H.** 1997. Generation of bovine immune colostrum against *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* and its effect on glucose uptake by mutans streptococci. *Vaccine* 15 (11): 1261–1268.

Marnila, P., Rehnberg-Laiho, L., Kosunen, T.U., Kärkkäinen, P., Syväoja, E.-L., Hänninen, M.-L., Rautelin, H., Virtanen, S., Lilius, E.-M. & Korhonen, H. 1996. Specific Immune Colostrum in the Treatment of *Helicobacter felis* Induced Gastritis in Mouse. In: IBC's Third Annual *Helicobacter pylori* & Gastrointestinal Disorders. New Approaches to Prevention, Diagnostics and Treatment, Philadelphia PA., USA, April 1-2, 1996. Congress catalogue, Southborough, MA, USA. International Business Communications. Chapter Posters p. 4.

Oona, M., Rägo, T., Maaros, H.-I., Mikelsaar, M., Löivukene, K., Salminen, S. & Korhonen, H. 1997. *Helicobacter pylori* in children with abdominal

complaints: has immune bovine colostrum some influence on gastritis? *Alpe Adria Microbiology Journal* 6 (1-2): 49–57.

Pat. FI-962688. Menetelmä ja tuote helikobakteeri-infektioiden hoitamiseksi. Valio Oy (Marnila, P. et al.) 28.6.1996. 29 p.

Pat. Int. PCT/FI97/00418 1998. Pharmaceutical composition, comprising complement proteins, for the treatment of *Helicobacter* infections and a method for the preparation of the composition. Valio Oy. (Korhonen, H. et al.) 8.1.1998. 28 p.

Rehnberg-Laiho, L., Marnila, P., Kosunen, T.U., Syväoja, E.-L., Hänninen, M.-L., Kärkkäinen, P., Rautelin, H., Virtanen, S., Lilius, E.-M. & Korhonen, H. 1995. Specific Immune Colostrum in the Prevention of *Helicobacter felis* Infection in Mice. European *Helicobacter pylori* Study Group. In: VII-th International Workshop on Gastrointestinal Pathology and *Helicobacter pylori*, Edinburgh, Scotland, 7-9th July 1995. *Gut* (Supplement 37, 1): A92.

Tarpila, S., Korhonen, H. & Salminen, S. 1995. Immune Colostrum in the Treatment of *Helicobacter pylori* Gastritis. In: 24th International Dairy Congress, Melbourne, Australia, September 18-22, 1995. Abstract Book, Melbourne, Australia: The Australian Committee of the International Dairy Federation. p. 293 Ha6p.

Virtanen, S., Syväoja, E.-L., Loimaranta, V. & Korhonen, H. 1998. Stability and activity of bovine colostrum derived anti-caries streptococci antibodies added to UHT milk product. In: European Dairy Experts Symposium: Dairying behind the Dikes, Arnhem, The Netherlands, 15-18 September 1998. Book of Abstracts, ISBN 90-71828-06-9, p. 38.

Maidon antioksidanttitekijöiden karakterisointi, eristäminen ja hyväksikäyttö

Eero Pahkala¹⁾, Helena Hyvärinen¹⁾ & Hannu Korhonen¹⁾

¹⁾ *Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen*

Tässä tutkimuksessa etsittiin ja karakterisoi-
tiin lehmän maidon proteiiniosan antiok-
sidatiivisia yhdisteitä. Tällöin todettiin, että
erityisesti maidon kaseiineilla on hyvä anti-
oksidanttikapasiteetti. Kun kaseiineja hyd-
rolysoitiin entsymaattisesti, pystyttiin tuot-
tamaan ja eristämään peptidejä, joilla todet-

tiin olevan huomattavan korkeita antioksi-
danttiaktiivisuuksia.

Lisäämällä voihin aktiivisia komponent-
teja valmistuksen yhteydessä, pystyttiin es-
tämään rasvan hapettumista säilytyksen ai-
kana.

Avainsanat: antioksidantit, kaseiinit, maidon proteiinit, peptidit

Johdanto

Hapettumista estäviä yhdisteitä eli antioksidantteja on käytetty jo kauan hyväksi elintarvikkeiden sisältämien rasvojen hapettumisen estämisessä. Lipidien hapettuminen aiheuttaa makuvirheiden lisäksi ravintoarvon heikkenemistä ja tuottaa mahdollisesti myös terveydelle haitallisia yhdisteitä (esim. Korycka-Dahl & Richardson 1978). Viime aikoina huomiota on kiinnitetty erityisesti kolesterolin hapettumistuotteisiin (kolesterolioksidit), joita saattaa muodostua maitojauheissa valmistuksen ja säilytyksen aikana. Kolesterolioksideja on todettu muun muassa äidinmaidonkorvikkeissa, kananmunajauheissa ja kuivatuissa lihavalmistetuissa (Appelqvist & Nourooz-Zadeh 1986). Eräillä kolesterolioksidien muodoilla on todettu olevan sytotoksisia ja aterogeenisiä vaikutuksia ja siksi niiden esiintyminen elintarvikkeissa on epätoivottua (Jialal & Scaccini 1992). Kolesterolin ja muiden lipidien hapettumista estävien luontaisten antioksidanttien hyväksikäyttö ja sovellusten kehittäminen on siten hyvin ajankohtaista elintarvikkeiden terveellisyyden ja turvallisuuden varmistamiseksi.

Antioksidanteilla tiedetään olevan positiivista vaikutusta myös elimistössä, sillä ne eliminoivat tai muuttavat muun muassa vapaita radikaaleja (Kihlberg 1993). Uusimmat tutkimukset osoittavat, että elimistön antioksidanttisuoja vahvistamalla voidaan vaikuttaa esimerkiksi sydän- ja verisuonitautien sekä tiettyjen syöpämuotojen ilmaantumukseen (Johnson et al. 1992). Tällä hetkellä on olemassa niukasti tietoa siitä, miten antioksidanttisuoja voitaisiin lisätä luonnollisella tavalla eli ravitsemuksen kautta.

Maidon tiedetään sisältävän useita entsyymejä, vitamiineja, valkuaisaineita ja hiivenaineita, joilla on sekä pro- että antioksidatiivisia ominaisuuksia (Taylor & Richardson 1980). Näiden yhdisteiden kokonaisvaikutus *in vitro* ja *in vivo* on kuitenkin vähän tunnettu. Myöskään maitoteknologis-

ten prosessien vaikutusta maidon antioksidanttikapasiteettiin ei ole selvitetty. Esitutkimukset (Korhonen et al. 1994, Korpela et al. 1994) ovat toisaalta osoittaneet, että maito on luonnostaan erittäin vahva antioksidantti, ainakin *in vitro* -olosuhteissa. Saatujen tulosten mukaan normaali lehmän maito *in vitro* -olosuhteissa

- 1) estää lipidiperoksidaatioreaktioita useissa eri mallisysteemeissä,
- 2) on erittäin voimakas peroksyyliradikaalien sieppaaja ja
- 3) on voimakas superoksidiradikaalin sieppaaja.

Nämä ominaisuudet näyttävät vaihtelevan eri lehmien maidoissa, mutta eivät korreloi rasva-, laktoosi- tai proteiinipitoisuuden kanssa. Mielenkiintoista on, että maidon pastörointi ei tuhoa antioksidanttikapasiteettia ja keittäminen näyttää lisäävän sitä tietynsuuntaiseksi. Antioksidatiiviset tekijät näyttävät liittyvän läheisesti sekä kaseiini- että herajakeisiin (Taylor & Richardson 1980), mutta lähempää karakterisointia ei ole vielä tehty.

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli:

1. Eristää ja karakterisoida maidon, erityisesti sen proteiiniosaan liittyviä antioksidatiivisia tekijöitä sekä tunnistaa lipidien peroksidaatioon ja radikaalien sieppaukseen vaikuttavat tärkeimmät komponentit.
2. Selvittää kyseisten komponenttien käyttäytyminen maitoteknologisissa prosesseissa.
3. Rikastaa tai eristää kyseisiä komponentteja riittävästi ja riittävän puhtaina käytännön sovelluksia varten.
4. Selvittää niiden antioksidatiivista vaikutusta helposti hapettuvissa maitotuotteissa (esimerkiksi maitojauheet ja äidinmaidonkorvikkeet) ja muissa vastaavissa elintarvikkeissa tarkoituksena korvata erityisesti synteettisiä hapettumisen estoaineita.

Menetelmät

Tutkimuksen alussa seurattiin maidon antioksidatiivisista ominaisuuksista peroksyyliradikaalin ja superoksidianionin sieppauskykyä sekä lipidiperoksidaation estoa. Näytteinä käytettiin Maatalouden tutkimuskeskuksen lypsykarjan yksittäisten lehmien maitoja sekä Valio Oy:n Jokioisten alueella keräävän maitoauton sekamaitoa.

Näytemaito jaettiin saostamalla hera- ja kaseiinijakeisiin, jotka edelleen jaettiin pienempiin komponentteihin käyttäen hyväksi nestekromatografiaa sekä geelisuodatus- ja ioninvaihtomenetelmiä. Eristetyistä fraktioista määritettiin edelleen yllämainitut antioksidanttiominaisuudet.

Kaseiini sekä sen komponentit hydrolysoitiin kolmella erilaisella entsyymillä. Hydrolysaateista eristettiin aktiivisia komponentteja sekä analyttisessä mitassa nestekromatografialla että pilot-mitassa ultrasuodatuksin erilaisilla kalvoilla. Aktiivisten komponenttien tunnistamisessa käytettiin aminohappomäärityksiä sekä massaspektrometriaa (VTT/Kemiantekniikka).

Tutkimuksen viimeisessä vaiheessa selvitettiin eristettyjen/rikastettujen komponenttien soveltuvuutta hapettumisilmiöiden estoon voissa. Aktiivisia komponentteja lisättiin voinalmisteeseen vesilisäyksen yhteydessä voihin. Eri lämpötiloissa tapahtuneen varastoinnin aikana seurattiin hapettumisilmiöitä.

Tulokset

Maidon antioksidanttikapasiteetin todettiin olevan korkeimmillaan välittömästi poikimisen jälkeen ja tasoittuvan sitten muutamassa päivässä normaalitasolle. Erilaisilla säilörehuilla ja heinäruokinnalla tuotetuista maidoista lipidiperoksidaatiota esti parhaiten ja peroksyyliradikaalia pystyi sieppaamaan tehokkaimmin kuivaheinäruokinnalla tuotettu maito.

Maidosta eristetyistä proteiinijakeista erityisesti kaseiineilla oli hyvä antioksidantiaktiivisuus. Niiden hydrolysointi ei kohottanut kokonaiskapasiteettia, koska silloin syntyi sekä pro- että antioksidatiivisia peptidejä. Tietyillä peptideillä todettiin kuitenkin huomattavan korkeita antioksidantiaktiivisuuksia. Yksittäisistä peptideistä pystyttiin tunnistamaan ja nimeämään aktiivisia komponentteja, joilla oli joko hyvä peroksyyliradikaalin tai superoksidianionin sieppauskyky, tai hyvä lipidiperoksidaation estokyky. Tutkimuksessa löytyi myös peptidejä, joilla tavattiin nämä kaikki ominaisuudet.

Koemittaisessa valmistuksessa voihin lisätyillä tietyillä jakeilla pystyttiin estämään peroksidiluvulla mitattua rasvan hapettumista. Kolesterolioksidien muodostus voissa oli kuitenkin niin vähäistä, että siinä ei käytetyissä varastointiloissa eroja todettu.

Saavutettuja tuloksia voidaan hyödyntää maidon ravitsemuksellisesta arvosta käytävässä keskustelussa. Antioksidatiiviseksi todettuja komponentteja voidaan hyödyntää laajemminkin elintarviketeollisuudessa.

Appelqvist, L.-Å. & Nourooz-Zadeh, J. 1986. The content of some products of cholesteroloxidation in Swedish food. In: Proceedings Lipidforum, Göteborg, April 22- 23.1985. Kompendietryckeriet Kallered. p. 135

Jialal, I. & Scaccini, C. 1992. Antioxidants and atherosclerosis. Current opinion in lipidology 3: 324–328.

Johnson, M.A., Fischer, J.G. & Kays, S.E. 1992. Is copper an antioxidant nutrient? Critical Review of Food Science and Nutrition 32(1): 1–31.

Kihlberg, R. 1993. Effekter av antioxidanter. Livsmedelsteknik 5: 21–23.

Korhonen, H., Korpela, R., Ahotupa, M. & Syväoja, E.-L. 1994. Antioxidant capacity of bovine milk. In: 24th International Dairy Congress, Melbourne, Australia, 18th-22nd September 1994. Brief communications of posters and invited papers p. 210. Poster.

Korpela, R., Ahotupa, M. & Korhonen, H. 1994. Poster 45th Annual Meeting of EAAP, Edinburgh, UK.

Korycka-Dahl, M. & Richardson, T. 1978. Activated oxygen species and oxydation of food constituents. Critical Review of Food Science and Nutrition 10(3): 209–241.

Taylor, M.J. & Richardson, T. 1980. Antioxidant activity of skim milk: Effect of heat and resultant sulphhydryl groups. Journal of Dairy Science 63: 1783–1795.

Hankkeen muita julkaisuja

Himberg, M.-J. 1995. Maitoproteiinien antioksidanttiominaisuuksien karakterisointi. EKT–sarja 993. Helsingin yliopisto: Elintarvikealan koulutusohjelman tutkimuksia. 61 p.

–, **Pahkala, E. Ahotupa, M., Piironen, V. & Syväoja, E.-L.** 1995. Characterization of antioxidant activity in milk proteins. In: International Conference on Quality and Safety Aspects of Food & Nutrition in Europe '95 : QSFNE, Helsinki, Finland, August 22-25, 1995. Programme and Book of Abstracts. P Q H06.

Hyvärinen, H., Pahkala, E. & Korhonen, H. 1997. Characterization, separation and utilization of antioxidants in milk. In: Milk proteins: structure and functional properties, NorFA sponsored workshop, Kaunas University of Technology, Lithuania, November 10-11, 1997. 1 p.

Korpela, R., Ahotupa, M., Korhonen, H.J.T. & Syväoja, E.-L. 1995. Antioxidant properties of cow's milk. In: Mantere-Alhonen, S. & Maijala, K. (eds.). Milk in nutrition, effects of production and processing factors. NJF-report 102. Proceedings of NJF/NMR-seminar no. 252, Turku, Finland, 13.-15.1.1995. Helsinki: University Printing House. p. 157–159.

Pahkala, E., Hyvärinen, H., Korhonen, H. & Ahotupa, M. 1998. Maidon bioaktiiviset tekijät ja niiden

hyödyntäminen elintarvikkeissa ja erityisvalmisteissa, osaprojekti: Maidon antioksidantitekiäjien karakterisointi, eristäminen ja hyväksikäyttö. In: Maidon uudet sovellukset -ohjelman tutkimushankkeiden tiivistelmät. Kotieläintieteen päivät, Helsinki, 26-27.5.1998. p. 20

–, **Hyvärinen, H., Korhonen, H.J.T. & Ahotupa, M.** 1997. Maidon bioaktiiviset tekijät ja niiden hyödyntäminen elintarvikkeissa ja erityisvalmisteissa, osaprojekti: Maidon antioksidantitekiäjien karakterisointi, eristäminen ja hyväksikäyttö. In: Maidon uudet sovellukset: Maius-seminaari, Medipolis Center, Oulu, 23.5.1997. 1 p. (Tiivistelmät)

–, **Korhonen, H.J.T., Ahotupa, M., Ruutu, M., Korpela, R., Syväoja, E.-L. & Piironen, V.** 1996. Maidon antioksidantitekiäjien karakterisointi, eristäminen ja hyväksikäyttö. In: Maius-seminaari, Jokioinen, 14.5. 1996. 1 p. (Tiivistelmät)

Parviainen, E.-L. 1998. Hydrolysoinnin vaikutus kaseiinin ja kaseinikomponenttien antioksidanttikapasiteettiin. Kehittyvä Elintarvike 9(4): 36–37

– 1997. Hydrolysoinnin vaikutus kaseiinin ja kaseinikomponenttien antioksidanttikapasiteettiin. Helsingin yliopisto, Elintarvikealan koulutusohjelman tutkimuksia. EKT –sarja 1110. 90 p.

Bioaktiivisten peptidien tuottaminen ja karakterisointi

Anne Pihlanto-Leppälä¹⁾ & Hannu Korhonen¹⁾

¹⁾*Maatalouden tutkimuskeskus, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen*

Maatalouden tutkimuskeskuksessa on noin 10 viimeisen vuoden ajan tutkittu maidon proteiinien biologisia ominaisuuksia. Sekä natiiveilla että maidon proteiinien hajoamisessa muodostuvilla peptideillä on todettu olevan erilaisia biologisia ominaisuuksia. Näitä peptidejä on todettu muodostuvan fermentoiduissa maitovalmisteissa ja myös ruoansulatuskanavassa. Maidon uudet sovellukset -tutkimusohjelman puitteissa olemme keskittyneet verenpainetta alentavien, immuunijärjestelmää moduloivien sekä bakteerien kasvuun vaikuttavien peptidien ja proteiinihydrolysaattien tutkimi-

seen. Tunnistimme lukuisia heraproteiineista ja kaseiineista lohkeavia peptidejä, joilla on verenpainetta alentavaa vaikutus *in vitro*. Maitohappobakteereilla fermentoiduilla ja ruoansulatusentsyymeillä hajotetuilla heraproteiineilla todettiin myös immunomoduloivia ominaisuuksia. Heraproteiinihydrolysaattien todettiin lisäksi hidastavan *Escherichia coli* JM103 -kannan kasvua. Tutkimuksessa saatuja tuloksia voitane käyttää hyväksi kehitettäessä terveyttä edistäviä elintarvikkeita.

Avainsanat: bioaktiiviset peptidit, heraproteiinit, kaseiinit

Johdanto

Ravinnon proteiineilla on spesifisiä toimintoja ja biologista aktiivisuutta sen lisäksi, että ne toimivat aminohappojen lähteenä. Myös proteiinien hajoaminen ruoansulatuskanavassa tai prosessoinnin aikana saa aikaan peptidejä, joilla on erilaisia biologisia ominaisuuksia. Niitä säätelee peptidien aminohappokoostumus ja sekvenssi. Tällaiset bioaktiiviset peptidit muodostuvat yleensä 3–20 aminohapporyhmän muodostamasta ketjusta. Bioaktiivisten peptidien on todettu vaikuttavan muun muassa elimistön puolustuskykyyn, mineraalien hyväksikäyttöön, verenpaineeseen ja keskushermostoon (Meisel 1997). Bioaktiiviset peptidit ovat siis inaktiivisessa muodossa ravinnon proteiineissa ja vapautuvat vasta proteiinin hajotessa. Tämän jälkeen niiden on sitouduttava spesifiseen reseptoriin joko ohutsuolen sisäpuolella tai imeytymisen jälkeen limakalvon epiteelisoluissa. Maidon proteiinit ovat tärkeimpiä bioaktiivisten peptidien lähteitä, mutta niitä on myös kasvisperäisessä ravinnossa kuten vehnän ja maissin proteiineissa (Korhonen et al. 1998).

Tutkimuksen tavoitteena oli kehittää menetelmiä bioaktiivisuuden toteamiseen ja tutkia eri tavalla prosessoitujen maitoproteiinivalmisteiden aktiivisuuksia näillä menetelmillä. Erityisen mielenkiinnon kohteena olivat verenpainetta alentavat, valkosoluja aktivoivat ja bakteerien kasvua estävät peptidit. Tavoitteena oli myös eristää ja identifioida aktiivisia peptidejä maitoproteiinien hydrolysaateista.

Tutkimuksen tulokset on julkaistu tai lähetetty julkaistavaksi kansainvälisiin sarjoihin. Lisäksi tuloksia on julkaistu lukuisissa kansainvälisissä kongresseissa. Julkaisut ja käsikirjoitukset on esitetty kirjallisuustietelössä (Pihlanto-Leppälä et al. 1998a, 1998b, 1998c, 1999a, 1999b). Tässä kirjoituksessa on esitetty lyhyt yhteenveto saaduista tuloksista ja pohdinta tulosten mahdollisesta hyödyntämisestä.

Tulokset

Verenpainetta alentavat peptidit

Angiotensiiniä muuntava entsyymi (ACE) osallistuu verenpaineen säätelyyn. Verenpainetta alentavien peptidien eräänä vaikutusmekanismina näyttää olevan verisuonia voimakkaasti supistavan angiotensiini II -nimisen hormonin kaltaisen aineen muodostuksen esto siten, että se salpaa angiotensiiniä muuntavaa entsyymiä. Peptidipohjaisia lääkkeitä käytetään verenpaineen alentajina ja niiden vaikutus perustuu nimenomaan angiotensiini II:n muodostuksen estämiseen. Ensimmäiset ravinnon proteiinien ACE-estäjäpeptidit löydettiin vuonna 1979 gelatiinista. ACE-estäjiä on löydetty maidon, kalan ja maissin proteiinin entsyymaattisista hydrolysaateista (Ariyoshi 1993). Lisäksi myös eräiden maitohappobakteerien on todettu vapauttavan ACE:n estäjäpeptidejä maidon proteiineista (Yamamoto et al. 1994, Nakamura et al. 1995).

Omissa tutkimuksissamme olemme selvittäneet maitohappobakteereilla fermentoitujen ja ruoansulatusentsyymeillä hydrolysoitujen heraproteiinien ja kaseiinien ACE:n estovaikutuksia. Tutkituilla viili-, jogurtti- ja piimähapatteilla fermentoiduilla proteiineilla ei ollut ACE:n estoaktiivisuutta, sen sijaan proteolyttisillä entsyymeillä hajotetut proteiinit estivät ACE:n aktiivisuutta. Aktiivisia estäjäpeptidejä sisältäviä hydrolysaatteja fraktioitiin kromatografisesti, aktiiviset peptidit eristettiin ja tunnistettiin massaspektrometrisesti sekä määrittämällä peptidien aminohaposekvenssi. Tunnistetut ACE:n estäjäpeptidit on esitetty taulukossa 1. Aktiivisia peptidejä tunnistettiin α_{s1} -, β -kaseiineista sekä α -laktalbumiinista ja β -laktoglobuliinista. Peptidien IC_{50} -arvo (peptidipitoisuus, joka alentaa entsyymin aktiivisuutta 50 %) oli 50–1000 μ M (Pihlanto-Leppälä et al. 1998a, 1999a). Saadut IC_{50} -arvot olivat yhdenmukaisia kirjallisuudessa mainittujen

Taulukko 1. Maitoproteiinihydrolysaattien biologisia ominaisuuksia. Kaseiini ja heraproteiinien fermentointi tehty kaupallisilla viili-, piimä- ja jogurttihapat- teilla, hydrolysointi pepsini-trypsiinillä. Heraproteiini-isolaatteja on hydrolysoitu eri proteolyttisillä entsyymeillä (mm. trypsiini, kymotrypsiini, alkalaasi, pro- naasi). Tunnistetut peptidit ovat ACE:n estäjäpeptidejä.

Proteiini	Käsittely	ACE:n estoaktiivisuus	Immuno- moduloiva aktiivisuus	Antimikrobinen aktiivisuus	Tunnistett ACE:n estäjä- peptidit	Viite
Kaseiini	fermentointi	-	e.m.	e.m.		Pihlanto-Leppälä et al. 1998a
	pepsiini-trypsiini	+	e.m.	e.m.	α -s ₁ -cn ¹ f142-147, f157-164, f194-199 β -cn ² f177-183, f193-198	Pihlanto-Leppälä et al. 1998a
Hera	fermentointi	-	+	e.m.		Pihlanto-Leppälä et al. 1998a, 1998b
	pepsiini-trypsiini	+	+	e.m.	α -la f105-110 β -lg f9-14, f15-20	Pihlanto-Leppälä et al. 1998a, 1998b
α -laktalbumiini (α -la)	hydrolysointi	+	e.m.	+	α -la f50-52, f99-108, f104-108	Pihlanto-Leppälä et al. 1999a, 1999b
β -laktoglobuliini (β -lg)	hydrolysointi	+	e.m.	+	β -lg, f22-25, f32-40 f81-83, f94-100, f142-146	Pihlanto-Leppälä et al. 1999a, 1999b

- ei aktiivisuutta

+ aktiivisuutta todettu

e.m.= ei määritetty

1) α -kaseiini

2) β -kaseiini

maidon proteiineista peräisin olevien peptidistäjien arvojen kanssa.

Olemme myös havainneet, että kypsytetyissä suomalaisissa juustoissa (Edam, Turunmaa, Polar, Emmental 3 ja 6 kk, Cheddar) on ACE:n estoaktiivisuutta. Tulokset osoittivat, että juustossa muodostuu ACE:n estäjäpeptidejä, mutta nämä yhdisteet ilmeisesti hajoavat kun proteolyysi on edennyt pitkälle, sillä pitkälle kypsytetyssä (9 kk) musta-leimaemmentalissa ei ACE:n estoaiikutusta todettu. Saadut tulokset ovat yhdenmukaisia Meiselin et al. työryhmän (1997) tulosten kanssa. Siinä tutkimuksessa ACE:n estoaktiivisuutta todettiin muun muassa edam-, gouda-, emmental-, tilsit- ja roquefort-juustossa, pitkälle kypsytetyissä juustoissa (esimerkiksi parmesan) ACE:n estoaktiivisuus oli alhainen. Peptidien määrä näyttää vaihtelevan juuston kypsymisasteen mukaan (Meisel et al. 1997).

ACE:n estäjäpeptidejä koskevaa tutkimusta on vuoden 1998 alusta alkaen toteutettu yhteistyössä Helsingin yliopiston ja Valio Oy:n kanssa elintarvikeklusterin rahoituksen turvin. Jatkotutkimuksessa selvitetään ACE:n estäjäpeptidien *in vivo* -vaikutuksia. Aktiivisia ACE:n estäjäpeptidejä on syntetisoitu ja niiden verenkiertovaikutuksia on tutkittu spontaanisti hypertensivisillä rotilla. Tämä on tavallisin ihmisen verenpainetaudin kokeellinen malli.

Immunomoduloivat ominaisuudet

Lehmänmaidon α_{s1} - ja β -kaseiineista on löydetty immuunijärjestelmää moduloivia peptidejä. Kaseiiniperäisten immunopeptidien on todettu kiihdyttävän makrofagien fagosyyttistä aktiivisuutta sekä estävän *Klebsiella pneumoniae* -bakteerin kasvua hiirissä. Peptidit voivat kiihdyttää T-solujen kasvua ja aktiivisuutta elimistön puolustusjärjestelmässä lisäten vastustuskykyä (Fiat et al. 1993). Maidon fermentointi maitohappobakteereilla näyttää tuottavan ACE-estäjäpeptidien lisäksi immunomoduloivia peptidejä. Rokka et al. (1997) osoittivat mainitun tyyppisiä peptidejä probioottisel-

la *Lactobacillus* GG -bakteerilla fermentoidussa UHT-maidossa, jota hydrolysoitiin ruoansulatusentsyymeillä. Näin saatujen peptidifraktioiden on havaittu aminohapposekvenssistä riippuen joko vahvistavan tai heikentävän ihmisen veren lymfosyyttien jakautumista ja vasta-ainetuotantoa (Sütas et al. 1996).

Olemme tutkineet maitohappobakteereilla fermentoitujen ja ruoansulatusentsyymeillä hydrolysoitujen heraproteiinien immunomoduloivia ominaisuuksia. Heraproteiinien vaikutus valkosolujen fagosytoosin aktivaation ja "respiratory burstin" käynnistämiseen selvitettiin mittaamalla kemiluminesenssia. Pepsiini-trypsiini-hydrolysoitu hera sekä jogurttihapatteella fermentoitu hera aktivoivat annoksesta riippuen leukosyyttejä. Jos valkosoluja oli esi-inkuiboitu heranäytteiden kanssa, niin fagosytoosi estyi, kun tunnettua valkosolujen aktivaattoria lisättiin reaktioseokseen. Tutkittujen näytteiden välillä ei ollut merkitseviä eroja pitoisuuksilla $> 10^{-9}$ g/l. Tätä pienemmillä pitoisuuksilla aktivaatio ei eronnut merkitsevästi kontrollin arvoista. On todennäköistä, että suurilla pitoisuuksilla näytteet aktivoivat soluja ja kuluttivat solun energiavaroja. Pienemmillä pitoisuuksilla ($10^{-15} - 10^{-8}$ g/l) vaikutus johtui todennäköisesti bakteerien tuottamista yhdisteistä ja/tai proteiinien hajoamistuotteista, jotka vaikuttavat reseptorien ekspressioon ja/tai fagosytoivien solujen membraanitoimintoihin (Pihlanto-Leppälä et al. 1998b).

Antimikrobiset ominaisuudet

Maidon antimikrobinen aktiivisuus on liitetty pääasiassa heraproteiineihin, kuten laktoferriniin. Sillä on todettu bakteriostaattisia ja bakterisidisia ominaisuuksia, jotka perustuvat proteiinin kykyyn kelatoida rautaa tai sitoutua bakteerin pintaan. Laktoferrinistä eristetyillä peptideillä on todettu suurempi aktiivisuus kuin hajottamattomalla proteiinilla. Kyseisten peptidien on todettu olevan aktiivisia lukuisia patogeeni- ja pilaajamikro-organismeja koh-

taan. Sen sijaan ne eivät vaikuta hyötymikrobien, esimerkiksi *bifidobakteerien*, kasvuun (Tomita et al. 1994, Dionysius & Milne 1997). Lisäksi α_{s1} -kaseiinin 1–23 peptidin on todettu estävän *Staphylococcus aureus* - ja *Candida albicans* -kantojen kasvua (Lahov & Regelson 1996).

Olemme tutkineet eri entsyymeillä hydrolysoitujen α -laktalbumiinin ja β -laktoglobuliinin vaikutusta *Escherichia coli*n kasvuun ja metaboliseen aktiivisuuteen. Hydrolysaattien lisäys alensi *E. coli*n metabolista aktiivisuutta logaritmisesti kasvun aikana. Vaikutus on todennäköisesti bakteriostaattinen, sillä hydrolysaattia sisältävien solujen metabolinen aktiivisuus ei eronnut kontrollista 24 tunnin kasvatuksen jälkeen. Tutkituista entsyymeistä pepsini-trypsiini -yhdistelmä oli aktiivisin kummallakin proteiinilla. Myös hydrolysointi pepsinillä ja trypsiinillä erikseenkin vapautti aktiivisia yhdisteitä kummallakin proteiinilla. Bakterin kasvua estäviä yhdisteitä konsentroititiin kaksivaiheisella ultrasuodatuksella (Pihlanto-Leppälä et al. 1998c, 1999b). Aktiivisia jakeita on tarkoitus edelleen fraktioida, jotta pystyttäisiin tunnistamaan aktiiviset yhdisteet ja selvittämään mekanismia, jolla hydrolysaatit/peptidit hidastavat *E. coli*n kasvua. Jatkotutkimuksissa pyrimme selvittämään aktiivisten yhdisteiden kykyä estää erilaisten hyöty-, pilaaja- ja patogeeni-mikrobien kasvua.

Tulosten hyödyntäminen

Tässä tutkimushankkeessa on heraproteiineista tehdyillä hydrolysaateilla ja heraproteiineista lohkeavilla peptideillä osoitettu olevan monenlaista biologista aktiivisuutta. Näitä tuloksia voidaan hyödyntää etsittäessä uusia käyttösovelluksia juuston valmistuksessa syntyville heraproteiinijakeille. Näiden tutkimusten perusteella parhaimmat hyödyntämismahdollisuudet näyttäisivät olevan ACE:n estäjäpeptideillä ja antimikrobisilla hydrolysaateilla. Muista proteiinilähteistä (esimerkiksi kasvi, vilja ja kananmuna) lohkeavia peptidejä on tutkittu huomattavasti vähemmän kuin lehmän maidon proteiinien peptidejä. Jatkotutkimuksissa olisikin mielenkiintoista tutkia, löytyykö myös muista proteiinilähteistä vastaavanlaisia biologisia ominaisuuksia omaavia peptidejä. Lisäksi tarvitaan prosessointimenetelmien kehittämistä, ennen kuin bioaktiivisia peptidejä voidaan hyödyntää esimerkiksi terveysvaikutteisten elintarvikkeiden kehittämisessä.

Bioaktiivisten peptidien ominaisuudet on osoitettu lähinnä *in vitro* -tutkimuksissa, mutta myös eläinkokeilla ja ihmisillä tehdyissä tutkimuksissa on osoitettu näiden peptidien aktiivisuus. Hatan et al. työryhmä (1996) on todennut, että ACE:n estäjäpeptidejä sisältävä hapanmaito (Calpis) alentaa merkittävästi verenpainetta henkilöillä, joilla se on korkea. Vaikutus havaittiin 8 viikon käytön jälkeen (95 ml/päivä) ja ACE-estäjäpeptidiä nautittiin päivässä vain 1,2–1,6 mg annos. Vielä tarvitaan kuitenkin lisää tutkimusta bioaktiivisten peptidien molekulaaristen mekanismien ja fysiologisten toimintojen selvittämiseksi.

Kirjallisuus

- Ariyoshi, Y.** 1993. Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trends in Food Science & Technology* 4: 139–144.
- Dionysius, D.A. & Milne, J.M.** 1997. Antibacterial peptides of bovine lactoferrin: Purification and characterization. *Journal of Dairy Science* 80: 667–674.
- Fiat, A.-M., Migliore-Samour, D., Jollés, P., Drouet, L., Sollier, C.B. & Caen, J.** 1993. Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunomodulating activities. *Journal of Dairy Science* 76: 301–310.
- Hata, Y., Yamamoto, M., Ohni, M., Nakajima, K., Nakamura, Y. & Takano, Y.** 1996. A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* 64: 767–71.
- Korhonen, H., Pihlanto-Leppälä, A., Rantamäki, P. & Tupasela, T.** 1998. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends in Food Science & Technology* 9: 307–319.
- Lahov, E. & Regelson, W.** 1996. Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: Caseicidin, Isracidin peptides. *Food Chemical Toxicology* 34: 131–145.
- Meisel, H.** 1997. Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins. *Biopolymers* 43: 119–128.
- , **Goepfert, A. & Günther, S.** 1997. ACE-inhibitory activities in milk products. *Milchwissenschaft* 52: 307–311.
- Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, A. & Takano, T.** 1995. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *Journal of Dairy Science* 78: 777–783.
- Pihlanto-Leppälä, A., Koskinen, P., Piilola, K. & Korhonen, H.** 1999a. ACE-inhibitory properties of whey protein digests: concentration and characterization of active peptides. *Journal of Dairy Research* (Submitted)
- , **Marnila, P., Hubert, L. & Korhonen H.** 1998c. Antibacterial effect of whey protein hydrolysates. In *Milk Proteins Structure and Functional Properties*, NorFA sponsored workshop 28-30 November 1997 Naanatali Finland
- , **Marnila, P., Hubert, L., Rokka, T., Korhonen H. & Karp, M.** 1999b. The effect of β -lactalbumin and -lactoglobulin hydrolysates on the metabolic activity of *Escherichia coli* JM103. *Journal of Applied Microbiology* (Submitted)
- , **Marnila, P., Rokka, T., Järvinen, N. & Korhonen, H.** 1998b. Immunomodulatory effects of whey protein digests on human leukocytes. *Proceedings of 1st International Symposium on Enzymatic Protein Processing*, Noordwijkerhout, the Netherlands, December 2-4, 1998. (Submitted).
- , **Rokka, T. & Korhonen H.** 1998a. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. *International Dairy Journal* 8: 325–331.
- Rokka, T., Syväoja, E.-L., Tuominen, J. & Korhonen, H.** 1997. Release of bioactive peptides by enzymatic proteolysis of *Lactobacillus* GG fermented UHT-milk. *Milchwissenschaft* 52: 675–678.
- Sütas, Y., Soppi, E., Korhonen, H., Syväoja, E.-L., Saxelin, M., Rokka, T. & Isolauri, E.** 1996. Hydrolysis with *Lactobacillus* GG-derived enzymes generates caseins with suppressive effects on lymphocyte proliferation *in vitro*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 98: 216–224.
- Tomita, M., Takase, M., Bellamy, W. & Shimamura, S.** 1994. A review: The active peptide of lactoferrin. *Acta Paediatrica Japonica* 36: 585–591.
- Yamamoto, N., Akino, A. & Takano, T.** 1994. Anti-hypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus casei* CP790. *Journal of Dairy Science* 77: 917–922.

Maitohappobakteerien hyödyntäminen

Probioottisilla maitohappobakteereilla fermentoitujen maitovalmisteiden kliiniset suolistovaikutukset

Minna Alander

Ei saatavissa

		Julkaisun sarja ja numero Maatalouden tutkimuskeskuksen julkaisuja. Sarja A 55	
		Julkaisuaika (kk ja vuosi) Huhtikuu 1999	
Tekijä(t) Hannu Korhonen & Pirjo Rantamäki (toim.)		Tutkimushankkeen nimi	
		Toimeksiantaja(t) Maatalouden tutkimuskeskus	
Nimike Maidon uudet sovellukset. Tutkimusohjelman loppuraportti.			
Tiivistelmä <p>Maa- ja metsätalousministeriön Maidon uudet sovellukset (MAIUS) -tutkimusohjelma toteutettiin vuosina 1995–1998. Ohjelman strategisena tavoitteena oli Suomen elintarviketalouden kotimaisen ja ulkomaisen kilpailukyyn ylläpitäminen ja kehittäminen hyödyntämällä monipuolisesti Suomessa tuotettua maitoa ja sen aineosia. Tutkimusohjelman erityisenä tavoitteena oli löytää maidolle uusia käyttöalueita kehittämällä uusia tuotteita, uusia liikeajatuksia ja uutta liiketoimintaa huomioimalla markkinointinäkökohdat tuotteistamisen yhteydessä. Ohjelman painoaloiksi valittiin seuraavat: maidon alkutuotannon kilpailukyyn vahvistaminen, heran jatkojalostuksen kehittäminen, maitoon perustuvien erikoistuotteiden kehittäminen ja maitohappobakteerien hyödyntäminen. Yhteensä ohjelmaan kuului 13 hanketta, joista suurin osa vietiin päätökseen ohjelman aikana. Saatuja tutkimustuloksia on julkaistu tieteellisissä sarjoissa ja alan ammattilehdissä sekä seminaareissa ja kongresseissa. Tutkimusohjelmaan osallistuivat Suomen johtavat maitoalan tutkimuslaitokset, yliopistot ja yritykset, joiden välisellä yhteistyöllä oli huomattava vaikutus hankkeiden tulokselliseen toteutumiseen. Myös kotieläinjalostuksen ja maidontuotannon neuvonnan järjestöt osallistuivat eri tavoin ohjelman läpivientiin.</p> <p>MAIUS-ohjelmassa saatiin kaikilla valituilla painoaloilla merkittäviä tieteellisiä tuloksia, joita voidaan hyödyntää tulevaisuudessa koko maitoketjussa ja siten varmistaa maidon ja maitotuotteiden korkean laatutason säilyminen maassamme. Tutkimustulokset lisäävät maidon ravintoarvoa koskevaa tietämystä ja edistävät erityisesti juustoheran ja maitohappobakteerien hyväksikäyttöön liittyvää tuotekehitystä. Tutkimustuloksilla on erityistä merkitystä terveysvaikutteisten elintarvikkeiden kehittämisessä. MAIUS-ohjelmassa saatuja tuloksia voidaan soveltaa pyrittäessä vahvistamaan maidon alkutuotannon ja jalostavan teollisuuden kilpailukykyä sekä edistämään maidon arvostusta ravitsemuksessa.</p>			
Avainsanat alkutuotanto, hera, jatkojalostus, kilpailukyky, maa- ja metsätalousministeriö, maidon tuotanto-ominaisuudet, maito, maitohappobakteerit, ruokinta, terveysvaikutteiset elintarvikkeet			
Toimintayksikkö MTT, Elintarvikkeiden tutkimus, 31600 Jokioinen			
ISSN 1238-9935	ISBN 951-729-542-1	<input type="checkbox"/> Tuloksia voi soveltaa luomuviljelyssä	
Myynti: MTT tietopalveluyksikkö, 31600 JOKIOINEN Puhelin (03) 4188 2327 Telekopio (03) 4188 2339		Sivuja 126 s.	Hinta

Jyväskylän yliopistopaino 1999
ISBN 951-729-542-1
ISSN 1238-9935