

# Rypsirehujen, puna-apilan ja härkäpavun bioaktiiviset yhdisteet

---

Kaisa Kuoppala, Luonnonvarakeskus

24.11.2017



# Rypsirehujen, puna-apilan ja härkävavun bioaktiiviset yhdisteet

## Sisällys

Tiivistelmä .....	3
1. Johdanto .....	4
2. Rypsin ja rapsin glukosinolaatit.....	5
Öljykasvien tuotanto.....	5
Glukosinolaatit .....	6
Rypsi- ja rapsilajikkeet.....	7
Glukosinolaattipitoisuudet.....	8
Vaikutukset eläimille ja ihmisille.....	9
Johtopäätökset glukosinolaateista .....	10
3. Puna-apila ja kasviestrogeenit .....	11
Vaikutus eläimille .....	12
Johtopäätökset kasviestrogeeneista.....	13
4. Härkävavu ja haitta-aineet .....	15
Johtopäätökset härkävavun haitta-aineista .....	16
5. Kirjallisuus .....	17

## Tiivistelmä

**Rypsi- ja rapsilajikkeet** ovat nykyään ns. kaksoisnolla-lajikkeita, joissa erukahapon ja glukosinolaattien pitoisuudet ovat matalia. EU:n asiantuntijapaneelin selvityksen mukaan maitoon ja lihaan siirtyy hyvin pieni osa rehuista saadusta glukosinolaattimäärästä. Ihmiset saavat paljon enemmän glukosinolaatteja ristikkukaisista vihanneksista kuten erilaisista kaaleista. Kaalien syömistä suositellaan niiden terveellisyyden takia ja tämä vaikutus tulee nimenomaan glukosinolaattien terveyttä edistävästä vaikutuksesta.

Kun lehmien syövä rypsi ja rapsi on peräisin kaksoisnollalajikkeista, glukosinolaattimäärät ovat niin matalat, ettei eläimelle tai ihmiselle aiheudu haittaa. Maidon jodipitoisuus näyttäisi pienentyvän eri tutkimusten mukaan, kun lypsylehmän rehuannoksessa on runsaasti rypsiä. Suomessa jodia lisätään ruokasuolaan ja myös ammattikeittiöt ja elintarviketeollisuus on veloitettu käyttämään jodioitua suolaa valmistamassaan ruuassa. Näin ollen jodin saanti näyttäisi turvatulta.

**Puna-apila** sisältää rehuksveistamme eniten kasviestrogeeneja, pääasiassa isoflavoneja. Niiden pitoisuuksiin vaikuttavat lajike, korjuuaika, säilöntätapa ja kasvuolosuhteet. Kasviestrogeenien pitoisuus pienenee, kun kasvusto korjataan myöhemmin. Esikuivatus vähentää pitoisuuksia, mutta säilörehuksi tekeminen lisää niitä. Myös kasvuolosuhteet ja kasvupaikka vaikuttavat niin, että epäsuotuisan kasvukauden jälkeen pitoisuudet ovat suurempia. Lypsylehmien säilörehuna puna-apilaa käytetään yleensä heinäkasvien kanssa seoksena. Puna-apilan osuus kasvustosta vaihtelee eri satojen ja satovuosien välillä niin, että toisessa niitossa puna-apilaa on yleensä enemmän kuin ensimmäisessä. Puna-apilan osuus vähenee satovuosien myötä. Kasviestrogeeneista ei puna-apilapitoista säilörehua syötettäessä ole haittaa lypsylehmien hedelmällisyydelle.

**Härkäpapu** sisältää erilaisia haitta-aineita, mutta pötsimikrobien toiminnan ansiosta märehtijät eivät ole herkkiä niille toisin kuin yksimahaiset. Härkäpapua voidaan sisällyttää lypsylehmien rehuannoksiin useita kiloja päivässä ilman haittavaikutuksia.

Eri rehujen haitta-aineista kannattaa olla tietoinen, mutta aihetta ylireagointiin ei ole, kun tarkastellaan rypsirehujä, puna-apilaa tai härkäpapua lypsylehmien rehuina. Sen sijaan rehuissa esiintyvien homeiden tuottamat mykotoksiinit kuten aflatoksiinit ovat haitallisia lehmälle ja siirtyvät myös maitoon ja maitotuotteisiin (<https://www.evira.fi/yhteiset/vierasaineet/tutkimukset-ja-projektit/aflatoksiini/>).

## 1. Johdanto

Rypyssä ja palkokasveissa on monenlaisia bioaktiivisia yhdisteitä, jotka eivät ole varsinaisia ravintoaineita, mutta niillä on kuitenkin metabolisia vaikutuksia näitä kasveja syöviin eläimiin ja ihmisiin. Vaikutukset voivat olla negatiivisia, positiivisia tai molempia. Tällaisia aineita ovat esimerkiksi glukosinolaatit ja kasviestrogeenit.

Glukosinolaattien tehtävä kasvissa on toimia puolustusjärjestelmänä kasvinsyöjiä ja taudinaiheuttajia vastaan. Kasviestrogeenit ovat laaja ryhmä kasvikunnassa esiintyviä estrogeenin kaltaisia yhdisteitä, joiden avulla kasvi muun muassa puolustautuu kasvinsyöjiä, patogeenejä tai ultraviolettisäteilyä vastaan.

Rehukasvien haitta-aineet voivat vaikuttaa lypsylehmien omaan terveyteen, ne voivat siirtyä maitoon tai vaikuttaa maidon laatuun epäsuorasti esimerkiksi lehmän mikrobiston kautta. Suomessa maito ja maitovalmisteet ovat tärkeitä paitsi lasten myös aikuisten ruokavaliossa, sillä maitovalmisteiden kulutus henkeä kohti on Suomessa maailman korkein (FAO 2007).

Tässä kirjallisuusselvityksessä keskitytään kahden lypsykarjalle tärkeän rehun, rypsin ja puna-apilan sekä yhden uuden tulokkaan, härkävavun haitta-aineisiin. Fokuksessa ovat mahdollisesti maitoon ja näin ihmisten ravinnoksi päätyvät yhdisteet. Alkusysäys kirjallisuusselvityksen tekoon tuli meijeriteollisuuden asiakkaiden esittämästä huolesta runsaan rypsirookinnan vaikutuksesta maidon laatuun. Puna-apilan ja palkoviljojen viljely ja rehukäyttö on lisääntymässä ja sen vuoksi aihetta laajennettiin myös näiden rehujen keskeisiin haitta-aineisiin.

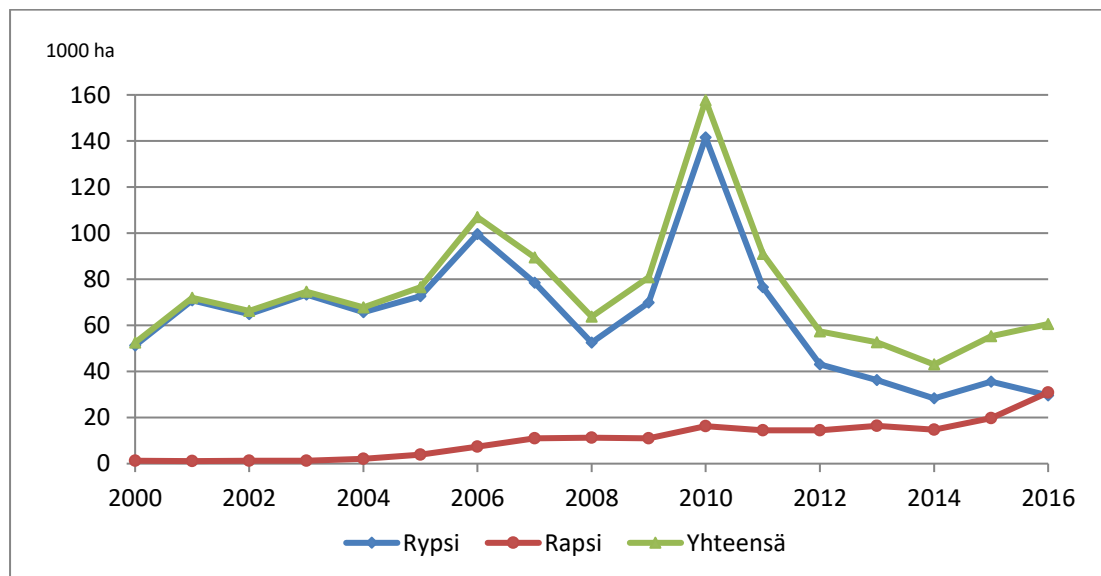
Kirjallisuusselvitystyö on tehty MAST-hankkeessa (Maitotalouden ja alkutuotannon systemaattinen tehostaminen Pohjois-Savossa), jota rahoittaa Pohjois-Savon ELY-keskus.

## 2. Rypsin ja rapsin glukosinolaatit

Rypsi ja rapsi ovat ristikukkaiskasvien (Brassicaceae) heimoon kuuluvia öljykasveja. Samaan heimoon kuuluvat myös kaalit, nauris, lanttu ja sinappi. Rypsi (*Brassica rapa* subsp. *oleifera*) on nauriin alalaji ja rapsi (*Brassica napus* subsp. *oleifera*) on lantun alalaji. Rypsistä/rapsista puristetaan tai uutetaan öljyä, joka käytetään pääasiassa elintarvikkeeksi ja elintarviketeollisuudessa. Öljyä käytetään lisäksi biodieselin raaka-aineena. Puristuksen tai uuton yhteydessä syntyvä puriste tai rouhe on tärkeä valkuaistäydennysrehu etenkin nautakarjan ruokinnassa. Rehuarvojen ja rehukäytön kannalta rypsi ja rapsi katsotaan samaksi rehuksi eikä niille erikseen ilmoiteta rehuarvoja Luken Rehutaulukot - verkkopalvelussa.

### Öljykasvien tuotanto

Euroopassa rapsia (Rape) tuotetaan satokaudesta riippuen noin 20 miljoonaa tonnia ja se on pääosin syysrapsia. Suomi on käytännössä ainoa maa, jossa viljellään rypsiä (Turnip rape). Myös Suomessa rapsin, tosin kevätmuotoisen, viljely on lisääntymässä niin, että vuonna 2016 kevätropsin viljelyala ylitti kevätropsin alan (kuva 1). Rypsilajikkeita on kaupan olevien lajikkeiden listalla paljon vähemmän kuin rapsilajikkeita (VYR 2017 <http://www.vyr.fi/rypsin-ja-rapsin-viljelyopas/rypsin-ja-rapsin-viljelyopas/> )



Kuva 1. Rypsin ja rapsin viljelyalojen kehittyminen Suomessa vuosina 2000-2016 (<http://stat.luke.fi/satotilasto>).

Maailman koko öljykasvisato on FAO:n mukaan satokaudella 2016/17 noin 545 miljoonaa tonnia (taulukko 1). Suurin osa tästä tulee soijapavusta (noin 60 %). Öljykasveista rapsia tuotetaan toiseksi

eniten. Rapsisato on viime vuosina ollut noin 70 miljoonaa tonnia. Suurimmat rapsin tuottajamaat ovat EU, Kanada ja Kiina.

Taulukko 1. Öljykasvien tuotanto maailmassa, miljoonaa tonnia (FAO 2017).

	2014/2015	2015/2016	2016/2017
Soijapapu	320	314	329
Rapsi	71	70	67
Puuvilla	45	38	40
Maapähkinä	38	37	40
Auringonkukka	41	42	46
Palmunydin	15	15	16
Kopra	6	5	6
Yhteensä	536	521	544

## Glukosinolaatit

Glukosinolaatit ovat kasvien biomolekyylejä, joita esiintyy erityisesti ristikukkaisilla kasveilla (Brassicaceae-heimo), kuten rypsilä, rapsilla, erilaisilla kaaleilla ja sinapilla. Glukosinolaatteja on identifioitu yli 140 lajia ja yhdessä kasvissa niitä voi olla useita erilaisia. Tutkimuksen kohteena ovat varsinaisten glukosinolaattien lisäksi myös monimuotoinen ryhmä niiden hajoamistuotteita. Näitä sekundaarisia tuotteita muodostuu sekä entsyymaattisissa että ei-entsyymaattisissa reaktioissa. Näiden yhdisteiden biologinen vaikutus voi olla myrkyllinen, haitallinen tai terveyttä edistävä riippuen pitoisuudesta ja yhdisteiden rakenteesta.

Rypsin ja rapsin lisäksi monet tavallisista ihmisten ruokavalioon kuuluvista vihanneksista kuten kaali, parsakaali, ruusukaali ja kukkakaali samoin kuin lanttu ja sinappi myös sisältävät glukosinolaatteja. Glukosinolaatit ja niiden erilaiset hajoamistuotteet tuottavat tietynlaisen selvästi erottuvan aromin ja karvaan maun eri kaalilajeihin (*Brassica oleracea*) tai esimerkiksi mustasinappiin (*Brassica nigra*). Aromin voimakkuuteen vaikuttavat eri glukosinolaattien pitoisuudet yksittäisessä kasvissa ja niiden hajoamisaste.

Glukosinolaatit ovat osa kasvin sisäistä puolustusjärjestelmää (Rask ym. 2000). Tähän puolustussysteemiin kuuluvat myös tioglukosidaasit eli myrosinaasi-entsyymit. Kun kasvin solukko rikkoutuu vaikka eläimen puraistessa sitä, myrosinaasit katalysoivat entsyymaattisen reaktion, jonka seurauksena syntyy mm. tiosyanaatteja, oksazolidiinitioneja ja nitrilejä.

Öljykasveissa kuten rypsi ja rapsi, hydrofiiliset glukosinolaatit jäävät öljyn uuton jälkeen valkuaispitoiseen rouheeseen. Rouheet ja puristeet ovatkin tärkeimmät glukosinolaattien lähteet kotieläinten rehuissa. Glukosinolaattipitoisuudet vaihtelevat huomattavasti eri kasvilajien ja -lajikkeiden välillä ja niihin vaikuttavat myös ilmasto, maaperä, lannoitteiden käyttö ja muut ympäristötekijät. Kasvin stressitila kuten kuivuus lisää glukosinolaattien pitoisuuksia.

## Rypsi- ja rapsilajikkeet

Kasvinjalostuksella on jo yli 30 vuoden ajan valittu ja tuotettu öljyn ja rehun tuotantoon parempia lajikkeita. Aluksi tuotettiin 0-lajikkeita, joissa erukahappopitoisuus oli saatu vähennettyä. Uudemmat 00-lajikkeet sisältävät sekä glukosinolaatteja että erukahappoa vain vähän. Nykyisin Suomessa viljellään vain 00-lajikkeita, joissa glukosinolaattien pitoisuudet ovat hyvin pieniä. Rapsi-lajike, jossa on vähemmän kuin 1 % erukahappoa öljyssä on ns. single low -lajike. Double low -lajikkeissa on lisäksi glukosinolaatteja alle 20  $\mu\text{mol/g}$  siemenen kuiva-ainetta. Canola on Kanadassa jalostettu muoto, jossa glukosinolaattipitoisuuden pitää virallisen määritelmän mukaan olla alle 30  $\mu\text{mol/g}$  rasvatonta rouhetta (<http://www.canolacouncil.org/oil-and-meal/what-is-canola/#OfficialDefinition>). Double low- ja Canolalajikkeet ovat korvanneet vanhat lajikkeet Euroopassa ja Pohjois-Amerikassa, mutta EFSA:n (2008) mukaan erityisesti trooppisen ilmaston maissa kuten Intiassa ja Kiinassa näin ei ole vielä käynyt. Näistä maista kuitenkin ei tuoda rapsia Suomeen, koska tuotanto siellä ei riitä omaankaan kulutukseen ja tuonti on suurta.

Monet viljelyyn ja sadon käyttöön liittyvät seikat ovat parantuneet lajikkeiden kehittyessä jalostuksen kautta, joten vanhojen lajikkeiden viljelystä ei siinä mielessä olisi hyötyä (Elina Nissilä, Boreal Oy, suullinen tiedonanto 12.10.2017). Kaksoisnolla-lajikkeet ovat nykyään viljelyssä koko maailmassa öljyn, biopolttoaineen, teollisen öljyn ja voiteluaineiden tuotannossa (Heuzé ym. 2017). Erukahapolla, joka on yksi monista rasvahapoista, on erityistä teollista käyttöä ja siksi on myös jalostettu korkeaerukahappoisia (HEAR-) lajikkeita. Myös näissä lajikkeissa on glukosinolaattipitoisuus matala kuten elintarvikekäyttöön tarkoitetuissa lajikkeissa. Vaikka siis lajikkeen öljyssä on korkea erukahappopitoisuus, sen puristeessa voi olla matala glukosinolaattipitoisuus.

Glukosinolaateilla ei ole mitään teollista hyötykäyttöä ja viljeltävissä lajikkeissa glukosinolaatit vain rajoittavat sadon käyttöä. Siksi ei ole syytä, miksi korkeaglukosinolaattiset lajikkeet yleistyisivät. Glukosinolaatit voivat ovat hyödyllisiä kasveille toimimalla suojakeinona tuholaisten vastaan. Viljelyssä tuholaisten torjunta on kuitenkin kannattavampaa hoitaa muilla keinoilla jolloin sadosta saadaan sekä öljy että rouhe hyödynnettyä (Elina Nissilä, Boreal Oy, suullinen tiedonanto 12.10.2017).

## Glukosinolaattipitoisuudet

Rypsi ja rapsin glukosinolaattipitoisuuksista ei Suomessa tai EU:ssa ole kovin paljon tietoa saatavilla. Glukosinolaatteihin liittyvät artikkelit ovat nykyään keskittyneet pitkälti ihmisten ravitsemukseen, erityisesti kaaleihin ja niiden terveysvaikutukseen. Tieteellisissä julkaisuissa rypsi/rapsirouhe ja -puriste lypsylehmien rehuna oli aiemmin yleinen aihe ja ennen 00-lajikkeiden yleistymistä glukosinolaattipitoisuuksia käsiteltiin paljon.

Tuori (1992) tutki 1980-luvulla rypsirehuja lypsylehmien valkuaisrehuina useassa kokeessa, joiden kuluessa rypsilajike vaihtui 0-lajikkeesta 00-lajikkeisiin. Glukosinolaattipitoisuus 0-lajikkeilla oli keskimäärin 40,0 ja 00-lajikkeilla 13,5  $\mu\text{mol/g}$  rasvatonta rouhetta. Lämpökäsitellyn (Öpex) 00-lajikkeen pitoisuus oli keskimäärin 10,25  $\mu\text{mol/g}$  rasvatonta rouhetta. Uuden 00-lajikkeen käyttöönoton jälkeen 1990-luvulla glukosinolaattipitoisuus pieneni alle 10  $\mu\text{mol/g}$  siementä (Vilkki 1991, teoksessa Tuori 1992). Tuorin (1992) mukaan progoitriini, glukobrassicinapiini, glukonapiini ja 4-hydroksiglukobrassikiini olivat pääasiallisia glukosinolaatteja 00-lajikkeissa ja niiden osuus 00-lajikkeissa oli suurempi kuin 0-lajikkeissa.

EFSA:n (2008) julkaisussa tanskalaisten v. 1998-2004 tehtyjen analyysien keskiarvotulos glukosinolaattien kokonaispitoisuudelle rapsin kokonaisissa siemenissä, puristeessa ja rouheessa oli 11,2 mmol/kg (n=59). Alimmat pitoisuudet eivät ylittäneet alinta määrittämissä rajaa ja ylimmät olivat 21,6 mmol/kg. Nautakarjan täydennysrehuissa oli keskimäärin 3,4 mmol/kg (n=42) ja 2 täysrehunäytteessä alle määrittämissä rajan. Virolaisessa puristeessa (v. 2004-2005) oli keskimäärin 22,5 mmol/kg (n=75, alin 7,1, ylin 80,6) (EFSA 2008).

Kanada suurena rapsiöljyn tuottajana valvoo rapsin laatua ja glukosinolaattipitoisuuksia erityisen tarkasti vuosittain. Canadian Grain Commissionin ([www.graincanada.gc.ca](http://www.graincanada.gc.ca)) mukaan Canolan glukosinolaattien kokonaispitoisuus on pysynyt hyvin samanlaisena vuodesta 2009 ja v. 2016 Canolan siemenissä se oli keskimäärin 10  $\mu\text{mol/g}$  (siementen kosteus oli 8,5 %), joka vastaa 22  $\mu\text{mol/g}$  rasvatonta kuiva-ainetta. Kanadalaisten sääntöjen mukaan Canolaksi voi nimittää rapsia, jonka öljyn rasvahappokoostumuksessa on alle 2 % erukahappoa ja jonka kiinteä osa sisältää vähemmän kuin 30  $\mu\text{mol}$  glukosinolaatteja per gramma ilmakuivaa rasvatonta ainetta <http://www.canolacouncil.org/oil-and-meal/what-is-canola/#OfficialDefinition>

Adewole ym. (2016) julkaisi tuloksia 11 eri tuotantolaitoksesta Kanadassa kerätyistä rapsinäytteistä. Glukosinolaattien kokonaispitoisuus vaihteli 1,90:sta 9,70:ään  $\mu\text{mol/g}$  ka ja oli keskimäärin 4,60  $\mu\text{mol/g}$  ka. Luonnonvarakeskuksen ScenoProt-hankkeessa analysoidun rypsiipuristeen



glukosinolaattien kokonaismäärä oli  $2,08 \pm 0,74$   $\mu\text{mol/g}$  ka, josta progoitriinia oli 39-46 % kokonaismäärästä (julkaisematon 2017).

### Vaikutukset eläimille ja ihmisille

Glukosinolaattien hajoamistuotteet voivat olla joko karsinogeenisia tai jotkut niistä voivat vaikuttaa jopa syöpää ehkäisevästi. Joidenkin glukosinolaattien hajoamistuotteet sulforafaanit, fenyyliit ja indolyyli isotiosyanaatit vaikuttavat antikarsinogeenisesti. Epidemiologisten tutkimusten tulokset vahvasti viittaavat siihen, että kaalien ja muiden ristikkukaisten vihannesten syöminen vähentäisi syöpäriskiä (Razis ym. 2013) glukosinolaattien runsaan pitoisuuden takia. Vaikutuksen katsotaan johtuvan erityisesti isotiosyanaateista.

Sitä vastoin progoitriini ja indolyyli glukosinolaatti hajoavat goitriiniksi ja tiosyananaatiksi, jotka voivat vähentää kilpirauhashormonin tuotantoa (Felker ym. 2016). Ne häiritsevät jodin ottoa ja kilpirauhashormonien tuotantoa eläimillä ja johtavat vähitellen kilpirauhasen liikakasvuun (kts esim. Halkier ja Gershenzon 2006). Kaikilla kotieläimillä on raportoitu jonkinasteisia myrkytysoireita glukosinolaattipitoisten rehujen syönnin seurauksena, mutta useimmat tapausselosteet eivät sisällä annettuja glukosinolaattimääriä ja ne ovat ajalta ennen kaksoisnollalajikkeita. Yleisemmin raportoituja seurauksia tuotantoeläimillä ovat tuolloin olleet kasvun viivästyminen, tuotannon vähentyminen, maksa- ja munuaisongelmat. Iso ongelma on kuitenkin ollut glukosinolaattipitoisen rehun huono maittavuus, joka tuolloin vähensi rehujen syöntiä ja heikensi kasvu- ja tuotantotuloksia.

Kun lehmille käytetään valkuaistäydennysrehuna nykyisistä kaksoisnollalajikkeista peräisin olevia rouheita ja puristeita, ei edellä mainittuja haittavaikutuksia ole odotettavissa. Valkuaistäydennysrehut ovat lypsylehmien rehuannoksen kallein osa, joten niitä annetaan rajallinen määrä. Normaali rypsin määrä lypsylehmien ruokinnassa on noin 3 - 4 kg päivässä.

### Maidon jodipitoisuus

Rypsi- ja rapsirehujen runsas käyttö vähentää maidon jodipitoisuutta. Schöne ym. (2017) analysoivat kuudelta itävaltalaiselta tilalta kahtena vuonna rehujen ja maidon jodipitoisuudet ja tekivät johtopäätöksen, että maittoon erittyi paljon vähemmän jodia kuin mitä annos-vaste -kokeissa oli aiemmin saatu tulokseksi. Tämän tutkijat tulkitsivat johtuvan rapsirouheesta tai -puristeesta, jota lehmät näillä tiloilla saivat 2,5 - 4,7 kg päivässä.

Norjalaisissa tutkimuksissa rapsirehun käyttö lypsylehmien valkuaistäydennysrehuna on myös yhdistetty matalaan maidon jodipitoisuuteen (Trøan ym. 2015). Trøanin tuoreen väitöskirjan mukaan (<https://www.nmbu.no/fakultet/biovit/om/institutt/iha/aktuellet/node/30918>) maidon jodipitoisuuden väheneminen liittyi enemmän rapsirehujen määrään ruokinnassa kuin

glukosinolaattien määrään sinänsä. Kotimaisia tutkimustuloksia maidon jodipitoisuuden ja rypsin käytön yhteydestä ei ole saatavilla.

Elimistö tarvitsee jodia kilpirauhashormonien tuotantoon. Suomalaisten jodin saanti on suosituksiin nähden kohtuullisella tasolla, mutta silti virtsan jodipitoisuuksien perusteella ainakin osalla suomalaisista on selkeä jodin puute. Valtion ravitsemusneuvottelukunnan mukaan aikuisten tulisi saada jodia noin 150 µg vuorokaudessa. Maitotuotteet ovat tärkeä jodin lähde Suomessa, mutta eivät ainoa, sillä jodiodun ruokasuolan merkitys on keskeinen. Valtion ravitsemusneuvottelukunta antoi syksyllä 2014 suosituksen käyttää jodioitua suolaa suurkeittiöissä ja keväällä 2015 suositusta laajennettiin koskemaan myös elintarviketeollisuutta.

[https://www.evira.fi/globalassets/vrn/pdf/ravitsemussuositukset\\_2014\\_fi\\_web.3\\_es-1.pdf](https://www.evira.fi/globalassets/vrn/pdf/ravitsemussuositukset_2014_fi_web.3_es-1.pdf).

### Johtopäätökset glukosinolaateista

Nykyään viljelyssä olevat rypsi- ja rapsilajikkeet ovat ns. kaksoisnolla-lajikkeita, joissa erukahapon ja glukosinolaattien pitoisuudet ovat matalia. EU:n asiantuntijapaneelin (EFSA 2008) selvityksen mukaan maitoon ja lihaan siirtyy hyvin pieni osa rehuista saadusta glukosinolaattimäärästä. Ihmiset saavat paljon enemmän glukosinolaatteja syömällä ristikkukaisia vihanneksia kuten erilaisia kaaleja. Kaalien syömistä suositellaan nimenomaan glukosinolaattien terveyttä edistävän vaikutuksen takia.

EFSA:n (2008) selvityksen mukaan vihanneksista saatava määrä vaihtelee 0,8-20 mmol/kg ka (Kushad ym. 1999). Lehmän maidosta saatava määrä on pieni (korkeimmat tiosyanaattien pitoisuudet 0,18 mmol/l ja goitriinin 0,7 mmol/l) vastaten noin 0,1 % saadusta glukosinolaattimäärästä. Lihassa pitoisuudet ovat vielä alempia. Kaikkien eläinperäisten tuotteiden glukosinolaattipitoisuudet ovat paljon matalampia kuin vihannesten, eikä niitä EFSA:n (2008) mukaan voi pitää ihmisille haitallisina.

Kun lehmien syövä rypsi ja rapsi on peräisin kaksoisnollalajikkeista, glukosinolaattimäärät ovat niin pieniä, ettei eläimelle tai ihmiselle aiheudu haittaa. Jos lehmien rehuksi päätyy vanhanaikaisista lajikkeista peräisin olevaa rouhetta, on toki mahdollista, että lehmien glukosinolaattien saanti on suurempi.

Maidon jodipitoisuus näyttäisi pienentyvän eri tutkimusten mukaan, kun lypsylehmän rehuannoksessa on runsaasti rypsiä. Suomessa jodia lisätään ruokasuolaan ja myös ammattikeittiöt ja elintarviketeollisuus on veloitettu käyttämään jodioitua suolaa valmistamassaan ruuassa. Näin ollen jodin saanti näyttäisi turvatulta.

### 3. Puna-apila ja kasviestrogeenit

Puna-apila (*Trifolium pratense*) on pohjoisen Euroopan yleisin monivuotinen nurmipalkokasvi. Suomalaisista rehukasveista se sisältää eniten kasviestrogeeneja. Valkoapilassa (*Trifolium repens*) ja vuohenherneessä (*Galega orientalis*) niitä on paljon vähemmän. Sinimaillassa (*Medicago sativa*) ei juuri ole isoflavoneja vaan sen tärkeimpiä kasviestrogeenejä ovat kumestaanit. Keltamaite (*Lotus corniculatus*) sen sijaan sisälsi kasviestrogeeneja vain hyvin pieniä määriä (Sarelli ym. 2003).

Kasviestrogeenit ovat kasveissa esiintyviä luonnollisia yhdisteitä, joilla on estrogeenista vaikutusta. Estrogeenit voivat vaikuttaa haitallisesti lisääntymiseen ja joihinkin sairauksiin, mutta niillä on myös hyödyllistä vaikutusta ihmisten terveyteen kuten syöpien ja sydän- ja verisuonitautien tai osteoporoosin ehkäisemiseen. Kaakkois-Aasian maissa ravinnosta saadaan runsaasti kasviestrogeeneja ja siellä näitä tauteja esiintyy vähemmän kuin länsimaissa (Hoikkala ym. 2007).

Kasviestrogeenien saanti on lisääntynyt sekä ihmisillä että eläimillä runsaasti soijan käytön lisääntymisen myötä (Bennetau-Pelissero 2016). Vaikka soija onkin ihmisille tärkein kasviestrogeenien lähde, myös eläintuotteista peräisin olevien kasviestrogeenien saanti voi olla merkittävä.

Yleisimpiä kasviestrogeeneja ovat isoflavonit, lignaanit ja kumestaanit. Neljä yleisintä puna-apilan isoflavonia ovat formononetiini, biokaniini A, daitseiini ja genisteiini (Baber 2013). Puna-apilan isoflavonien kokonaismäärä vaihtelee välillä 5–25 mg/g ka. Mustosen (2015) tutkimuksissa puna-apilalajikkeet Betty, Saija, Ilte ja Jokioinen sisälsivät formononetiinia 6,0–7,9 mg/g ka, biokaniini A:ta 3,7–6,1 mg/g ka, genisteiinia 0,5–0,6 mg/g ka ja daitseiinia 0,2–0,30 mg/g ka. Ruotsalaisen tutkimuksen (Bernes ym. 2017) mukaan kasviestrogeenien määrässä oli suuria eroja eri puna-apilalajikkeiden välillä. Kahdessa lajikkeessa oli korkeat sekä formononetiini- että kumesterolipitoisuudet. Kumesterolia ei tutkijoiden mukaan ole aiemmissa tutkimuksissa puna-apilasta löydetty.

Mustosen (2015) mukaan isoflavonien pitoisuuksiin vaikuttaa puna-apilan lajikkeen lisäksi korjuuaika. Myös kasvukauden sääolot ja kasvupaikka vaikuttavat niin, että epäsuotuisan kasvukauden jälkeen pitoisuudet ovat suurempia, kun kasvit ovat stressitilassa. Sarellin ym. (2003) ja Bernes'n ym. (2017) tutkimuksissa kasviestrogeenien pitoisuus väheni, kun kasvin kehitys eteni nappuasteelta kukintaan. Samoin esikuivatus suurempaan kuiva-ainepitoisuuteen vähensi pitoisuutta. Sen sijaan säilöntä lisäsi niiden pitoisuutta. Nappuasteella puna-apilan kasviestrogeenien pitoisuus oli keskimäärin 10,1 g/kg ka ennen säilöntää ja 11,1 g/kg ka säilönnän jälkeen. Kukintavaiheessa vastaavat pitoisuudet olivat 7,4 ja 10,0 g/kg ka (Sarelli ym. 2003). Bernes'n ym.

(2017) tutkimien eri puna-apilalajikkeiden keskimääräiset formononetiinipitoisuudet olivat korkeammat kuin aikaisemmin julkaistujen tutkimusten tuloksista lasketut keskiarvot. Tämä voi kertoa eroista vanhojen ja uusien lajikkeiden välillä.

Formononetiini ja daitseiini muuttuvat märehitjän pötsimikrobien toiminnan tuloksena nisäkkäiden isoflavoniksi equoliksi, jonka estrogeenivaikutus on suurempi kuin kasviestrogeenien. Equolia erittyy märehitjän ruuansulatuskanavasta virtsan (määrällisesti eniten), sonnan ja maidon mukana (Mustonen 2015). Lehmän maidon equolipitoisuus voi olla jopa 600-700 µg/l, kun lehmien ruokinta perustuu puna-apilasäilörehuun, vaikka vain pieni osa formononetiinista erittyy maitoon equolina (Mustonen ym. 2009). Mustosen ym. (2009) mukaan puna-apilaruokinnalla olevien lehmien maito voi toimia equolin lähteenä ihmisille. Suomalaisessa tutkimuksessa kaupasta ostetussa luomumaidossa oli equolia keskimäärin 411 ±65 ng/ml ja tavanomaisesti tuotetussa maidossa oli 62 ±16 ng/ml (Hoikkala ym. 2007). Tämän todettiin johtuvan luomutilojen puna-apilapitoisemmasta säilörehuruokinnasta.

## Vaikutus eläimille

Kasviestrogeenien vaikutuksen haitallisuus tai hyödyllisyys riippuu todennäköisesti tasapainosta, jossa sopiva määrä saa aikaan positiivisen vaikutuksen ja liika määrä haitallisen. Eläinlajien välillä on eroja herkkyydessä kasviestrogeenien vaikutukselle niin, että lampaat ovat herkempiä kuin naudat (McDonald 1995). Naudoilla on raportoitu muutoksia lisääntymiselimissä, viitattu hedelmällisyshäiriöihin, mutta myös sellaisia tuloksia on, että puna-apilarehu ei vaikuta mitenkään tai on jopa hyödyllistä. Ristiriitaisia tuloksia voi selittää puna-apilalajikkeiden väliset erot ja erot, jotka aiheutuvat maantieteellisistä eroista, kasvuolosuhteista (lämpö, kosteus, kuivuus, taudit, tuholaiset) tai vaikka analyysimenetelmistä. Kasviestrogeenien määrä kasvissa lisääntyy stressitilanteissa kuten poikkeuksellisissa sääoloissa, kuivuudessa tai kasvitautien ja tuholaisten takia.

Kasviestrogeenien vaikutuksesta lehmien hedelmällisyyteen löytyy varsin vähän systemaattista tutkimustietoa. Kallelan ym. (1984) artikkeli, johon monessa uudemmassa artikkelissa viitataan, on yhden suomalaisen tilan tapauselostus. Tilan 8 lehmää ja 2 hiehoa kärsivät 1982-1983 sisäruokintakauden aikana monenlaisista hedelmällisyshäiriöistä. Asiaa selvitettiin ja todettiin, että säilörehu oli lähes puhdasta puna-apilaa, jossa isoflavonien pitoisuus oli 0,56 % ka:ssa (5,6 g/kg ka). Rehun estrogeeninen teho todettiin rottakokein. Karjassa ilmenneiden oireiden samanaikaisuuden ko. rehun syöttämisen kanssa ja oireiden laadun perusteella Kallela ym. (1984) tekivät johtopäätöksen, että hedelmällisyshäiriöt näyttivät johtuvan puna-apilarehusta. Sen sijaan englantilaisessa tutkimuksessa (Austin ym. 1982) todettiin, ettei puna-apilasäilörehu huonontanut

hiehojen hedelmällisyyttä, vaan tiinehtyminen ensimmäiseen siemennykseen oli jopa parempi puna-apilaa saaneella ryhmällä. Tutkimuksessa verrattiin puna-apilasäilörehua (sisälsi formononetiinia 6,5 g/kg ka) nurmisäilörehuun (ei sisältänyt formononetiinia) hiehojen ruokinnassa ennen ja jälkeen siemennyskauden. Hashemin ym. (2016) mukaan egyptinapilan (*Trifolium alexandrinum*) isoflavonit häiritsivät Holstein hiehojen hormonaalista tasapainoa tiineyden alkuvaiheessa ja johtivat hedelmällisyshäiriöihin kokeessa, jossa verrattiin egyptinapila- ja maissisäilörehuja. Yksi varhaisista tapausselostuksista nautoihin liittyen käsittelee maa-apilalaitumia (*Trifolium subterranean*) Tasmaniassa (Thain 1965). Elghamry et al. (1969) raportoi estrogeenivaikutuksesta sinimailaslaitumella. Länsi-Australiasta, jossa lampaiden hedelmällisyysongelmat maa-apilalaitumilla olivat vakavia, ei ole Adamsin (1998) mukaan raportoitu ollenkaan vaikutuksesta nautoihin.

Luomutiloilla lypsylehmiä ruokinnassa käytetään runsaammin puna-apilaa sisältäviä säilörehuja kuin tavanomaisilla tiloilla. Luomutilojen hedelmällisyys ei kuitenkaan ole huonompi kuin tavanomaisten tilojen, päinvastoin luomutiloilla poikimaväli v. 2016 oli lyhyempi (410 vs. 406 pv) ja siemennyksiä poikimista kohti oli vähemmän (1,9 vs. 1,69) ProAgrian Lypsykarjan tuotosseurannan mukaan (<http://proluomu.fi/wp-content/uploads/sites/3/2017/06/Eklund-Luomutilojen-tulokset-2016.pdf>). Vaikka tilojen puna-apilan käyttömääristä ei ole tarkkaa tietoa, todennäköisesti se silti on tavanomaisilla tiloilla vähäisempää kuin luomutiloilla. Hedelmällisyyden huonontumiseen ei siis liene syynä puna-apilan käytön lisääntyminen säilörehunurmissa.

Lampaiden on todettu useissa tutkimuksissa olevan herkempiä rehun sisältämien kasviestrogeenien vaikutuksille. Maa-apilalaitumien aiheuttamat vaikeat hedelmällisyshäiriöt lampailta 1940-luvulla johtivat kasviestrogeenitutkimuksen alkamiseen. Mustosen (2015) tutkimuksissa ensi kertaa karitsoivien lampaiden hedelmällisyys ei kuitenkaan huonontunut puna-apilasäilörehuruokinnalla, kun lampaat söivät isoflavonipitoista rehua viisi kuukautta ennen lisääntymiskautta, sen aikana ja jälkeen. Ainoa muutos oli sikiönesteen määrän lisääntyminen, joka voi lisätä kohtuprolapsian riskiä.

### **Johtopäätökset kasviestrogeeneista**

Puna-apila sisältää rehuksveistamme eniten kasviestrogeeneja, pääasiassa isoflavoneja. Neljä yleisintä puna-apilan isoflavonia ovat formononetiini, biokaniini A, daitseiini ja genisteiini. Puna-apilan isoflavonien pitoisuuksiin vaikuttavat lajike, korjuuaika, säilöntätapa ja kasvuolosuhteet. Kasviestrogeeneja on puna-apilassa vähemmän, kun kasvusto korjataan myöhemmin. Esikuivatus vähentää pitoisuuksia, mutta säilörehussa on enemmän kuin raaka-aineessa. Myös kasvuolosuhteet ja kasvupaikka vaikuttavat niin, että epäsuotuisan kasvukauden jälkeen pitoisuudet ovat suurempia.

Kasviestrogeenit muuttuvat lehmässä pötsimikrobien toiminnan tuloksena nisäkkäiden isoflavoniksi equoliksi. Equolia erittyy maitoon, sontaan ja virtsaan (eniten). Maidon equolipitoisuus on tutkimuksissa ollut suurempi luomutiloilla, joilla säilörehu on tavanomaisia tiloja apilapitoisempaa.

Lypsylehmien rehuna ei juurikaan käytetä puna-apilan puhdaskasvustosta tehtyä säilörehua vaan puna-apila kasvaa yleensä heinäkasvien kanssa seoksena. Puna-apilan osuus kasvustosta vaihtelee eri satojen välillä niin että toisessa niitossa puna-apilaa on yleensä enemmän kuin ensimmäisessä. Puna-apilan osuus vähenee satovuosien myötä. Kasviestrogeeneista ei puna-apilapitoista säilörehua syötettäessä ole haittaa lypsylehmien hedelmällisyydelle.

## 4. Härkäpapu ja haitta-aineet

Härkäpapu (*Vicia faba*) kuuluu virnojen sukuun eikä varsinaisiin papuihin (*Phaseolus*-suku). Muita palkoviljoja ovat herne (*Pisum sativum*) ja lupiinit (sinilupiini *Lupinus angustifolius*, valkolupiini *Lupinus albus*). Härkäpapua on viljelty Suomessa jo satojen vuosien ajan ruuaksi, mutta viime vuosina se on tehnyt uuden tulemisen ruoka- ja rehukasvina. Härkäpapua voi käyttää rehuna joko puituina kuivina tai murskesäilöttyinä papuina tai kokoviljasäilörehuna joko seoksena viljan kanssa tai yksinään.

Härkäpapu kuten muutkin palkoviljat sisältävät yhdisteitä, joista voi olla haittaa eri eläinryhmille ja papuja syöville ihmisille. Näitä haitta-aineita ovat tanniinit, visiini ja konvisiini, lektiinit, proteaasi-inhibiittorit, saponiinit, fenoliyhdisteet. Haitta-aineiden tarkoitus kasvilla on toimia puolustusjärjestelmänä kasvinsyöjiä vastaan. Haitta-aineet huonontavat eläinten kasvua, hedelmällisyyttä ja terveyttä.

Härkäpavun lajike ja kasvuolosuhteet vaikuttavat sekä rehuarvoon että haitta-ainepitoisuuksiin (Crépon ym. 2010). Myös maailman yleisimmin käytetty valkuaisrehu soijapapu sisältää haitta-aineita ja niitä on soijassa enemmän kuin härkäpavussa (Gulewicz ym. 2014). Soijapapua käytetäänkin ruoaksi ja rehuksi aina kypsennettynä haitta-aineiden inaktivoimiseksi. Härkäpavun haitta-aineita on tutkittu Suomessa enemmän ihmisravitsemuksen kannalta. Visiini- ja konvisiinipitoisuuksista on julkaistu tuloksia siipikarjakokeiden yhteydessä (Koivunen 2016).

Tanniinit muodostavat liukenemattomia kompleksiyhdisteitä hiilihydraattien ja valkuaisen kanssa (Champ 2002, Puhakka ym. 2012), heikentävät valkuaisen ja tärkkelyksen sulavuutta ja huonontavat rehun maittavuutta. Lekiinit ovat glykoproteiineja, jotka haittaavat ravintoaineiden hajoamista ja imeytymistä eläimen ruuansulatuskanavassa sitoutumalla suolen seinämän limakalvon glykoproteiineihin ja hiilihydraatteihin. Ne voivat myös liimata yhteen veren punasoluja. Saponiinit ovat pinta-aktiivisia glykosideja, joilla on kyky muodostaa saippuamaista vaahtoa vesiliuoksessa. Ne vaikuttavat suolen seinämän läpäisevyyteen ja heikentävät syöntiä. Proteaasi-inhibiittorit haittaavat tiettyjen valkuaisaineita hajottavien entsyymien toimintaa ja täten heikentävät rehun sulatusta ja ravintoaineiden imeytymistä.

Härkäpavun haitta-aineista tärkeimpiä ovat visiini ja konvisiini. Ne ovat lämpöstabilleja glykosideja, jotka sijaitsevat härkäpavun sirkkalehdissä, joten niitä ei pysty poistamaan pavuista kuorimalla, jauhamalla tai muilla teknologisilla menetelmillä tai kuumennuskäsittelyillä (Crépon ym. 2010). Visiini ja konvisiini haittaavat erityisesti yksimahaisia. Ihminenkään ei voi syödä härkäpapuja raakana

ja kuivattuja härkäpapuja pitää liottaa yön yli ja keittää tunti juurikin haitta-aineiden takia. §. Tutkimustietoa ei löydy siitä siirtyvätkö ne tai niiden metaboliitit maitoon.

Kotimaisen Kontu-lajikkeen visiinin ja konvisiinin pitoisuus oli Koivusen (2016) väitöskirjatyössä keskimäärin 9,6 g/kg ka. Lajikkeilla, joilla on korkea pitoisuus, on raportoitu pitoisuuksia 6-14 g/kg ka ja matalan pitoisuuden lajikkeilla 0.3 g/kg ka. Kasvinjalostus pyrkii tuottamaan lajikkeita, joissa visiiniä ja konvisiiniä ei ole ollenkaan. Esimerkiksi Divine-lajikkeessa on hyvin matala visiinipitoisuus eikä ollenkaan konvisiinia.

Visiinin ja konvisiinin määriä voi vähentää rehuksi käytettävästä härkäpavusta murskesäilönnällä. Rinne ym (2018) tutkimuksessa härkäpapu murskattiin heti puinnin jälkeen ja säilöttiin ilman säilöntäainetta, maitohappobakteerivalmisteilla tai happopohjaisella säilöntäaineella. Ennen säilöntää visiinin ja konvisiinin pitoisuudet olivat 9,6, ja 5,69 mg/kg ka. Säilönnän jälkeen visiiniä ei löytynyt ollenkaan ja konvisiinipitoisuudet olivat pienempiä kontrolli- ja maitohappobakteerilla säilötyillä rehuilla kuin kemiallisilla aineilla säilötyillä. Kaikkien säilöttyjen rehujen pitoisuudet olivat pienempiä kuin raaka-aineen.

### **Johtopäätökset härkäpavun haitta-aineista**

Härkäpapu sisältää erilaisia haitta-aineita, mutta pötsimikrobien toiminnan ansiosta märehitijät eivät ole herkkiä niille kuten yksimahaiset. Härkäpapua voidaan sisällyttää lypsylehmien rehuannoksiin useita kiloja päivässä ilman haittavaikutuksia.



## 5. Kirjallisuus

- Adams, N.R. 1998. Clover phyto-oestrogens in sheep in Western Australia. *Pure and Applied Chemistry* 70: 1855-1862.
- Adewole, D.I., Rogiewicz, A., Dyckb, B. & Slominski, B.A. 2016. Chemical and nutritive characteristics of canola meal from Canadian processing facilities. *Animal Feed Science and Technology* 222:17-30. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.09.012>
- Austin, A. R., Aston, K., Drane, H.M. & Saba, N. 1982. The fertility of heifers consuming red clover silage. *Grass Forage Sci* 37:101-106.
- Baber, R.J. 2013. Phytoestrogens in health: The role of isoflavones. In *Isoflavones: Chemistry, Analysis, Function and Effects* (ed. VR Preedy), pp. 3-13. Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, 3- 13.
- Bennetau-Pelissero, C. 2016. Risks and benefits of phytoestrogens: where are we now? *Clinical Nutrition & Metabolic Care* 19:477-483.
- Bernes, G., Höjer, A. & Gustavsson, A-M. 2017. Innehåll av fytoöstrogein i olika rödklöversorter. Sveriges landbruksuniversitet Institutionen for norrländsk jordbrukvetenskap Umeå. Rapport 2017:1.
- Champ, M. M-J. 2002. Non-nutrient bioactive substances of pulses. *British Journal of Nutrition* 88 (Suppl. 3):S307–S319.
- Crépon K., Marget, P., Peyronnet, C., Carrouée, B., Arese, P., & Duc, G. 2010. Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field Crop Res.* 115:329–339.
- EFSA 2008. European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on glucosinolates as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 590:1-76.
- Elghamry MI, Grunert E and Schultz G 1969. Enlargement of the udders and milk secretion in non-pregnant heifers ingesting a pasture of estrogenic plants. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 76, 445-448.
- FAO 2007. FAO statistics; <http://chartsbin.com/view/1491>
- FAO 2017. Food Outlook June 2017. <http://www.fao.org/3/a-i7343e.pdf>
- Felker, P., Bunch, R. ja Leung, A.M. 2016. Concentrations of thiocyanate and goitrin in human plasma, their precursor concentrations in brassica vegetables, and associated potential risk for hypothyroidism. *Nutr Rev* (2016) 74 (4): 248-258. DOI: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv110>
- Gulewicz, P., Martinez-Villaluenga, C., Kasproicz-Potocka, M., Frias, J. 2014. Non-Nutritive Compounds in Fabaceae Family Seeds and the Improvement of Their Nutritional Quality by Traditional Processing – a Review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 64:75–89. DOI: 10.2478/v10222-012-0098-9
- Halkier, B.A. and Gershenzon, J. 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology* 57 (1): 303-333.
- Hashem, N.M., El-Azrak K.M., Sallam, S.M.A. 2016. Hormonal concentrations and reproductive performance of Holstein heifers fed *Trifolium alexandrinum* as a phytoestrogenic roughage 2016. *Animal Reproduction Science* 170: 121-127 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.012>
- Heuzé V., Tran G., Sauvant D., Lessire M., Lebas F., 2017. Rapeseed meal. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. <https://feedipedia.org/node/52> Last updated on June 21, 2017, 14:55
- Hoikkala, A., Mustonen, E., Saastamoinen, I., Jokela, T., Taponen, J., Saloniemi, H. ja Wähälä, K. 2007. High levels of equol in organic skimmed Finnish cow milk. *Mol. Nutr. Food Res.* 51:782-786. DOI 10.1002/mnfr.200600222
- Kallela, K., Heininen, K. & Saloniemi, H. 1984. Plant oestrogens; the cause of decreased fertility in cows. A case report. *Nord. Vet.-Med.* 36, 124–129.
- Koivunen, E. 2016. Home-grown grain legumes in poultry diets. Department of Agricultural Sciences. Doctoral thesis. Publication no 5/2016. <http://urn.fi/URN:ISBN:978-951-51-1921-6>
- Kushad, M.M., Brown, A.F., Kurilich, A.C., Juvik, J.A., Klein, B.P., Wallig, M.A. and Jeffery, E.H. 1999. Variation of glucosinolates in vegetable crops of Brassica oleracea. *J Agric Food Chem* 47: 1541-1548.
- Kässi, P., Niskanen, O. 2014. Apilapeltojen määrä kasvussa. *Maaseudun tiede* 71 3: 12.
- McDonald, M. F. Effects of Plant oestrogens in Ruminants. *Nutritional Society of New Zealand*, 1995, 20:43-51.
- Mustonen, E.A., Tuori, M., Saastamoinen, I., Taponen, J., Wähälä, K., Saloniemi, H. ja Vanhatalo, A. 2009. Equol in milk of dairy cows is derived from forage legumes such as red clover. *British Journal of Nutrition* 102:1552-1556. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114509990857>

- Mustonen, E. 2015. Red Clover Isoflavonoids in Feed, Plasma and Milk of Ruminants. Väitöskirja. Dissertationes Scholae Doctoralis Ad Sanitatem Investigandam Universitatis Helsinkiensis 90/2015 URN:ISSN:2342-317X
- Hashem, N.M., El-Azrak, K.M. & Sallam, S.M.A. 2016. Hormonal concentrations and reproductive performance of Holstein heifers fed *Trifolium alexandrinum* as a phytoestrogenic roughage. *Animal Reproduction Science* 170:121–127. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.012>
- Puhakka, L., Jyrinki, S. & Vanhatalo, A. 2012. Palkoviljojen haitta-aineet ja niiden merkitys kotieläinten ruokinnassa. *Maataloustieteen Päivät 2012*.
- Rask, L., Andreasson, E., Ekbom, B., Eriksson, S., Pontoppidan, B. and Meijer, J. 2000. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Mol Biol* 42:93-113.
- Razis, A., Faizal, A. ja Noramaliza Mohd, N. 2013. Cruciferous Vegetables: Dietary Phytochemicals for Cancer Prevention. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 14:1565-1570.
- Sarelli, L., Tuori, M., Saastamoinen, I., Syrjälä-Qvist, L. & Saloniemi, H. 2003. Phytoestrogen Content of Birdsfoot Trefoil and Red Clover: Effects of Growth Stage and Ensiling Method, *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science*, 53:58-63. <http://dx.doi.org/10.1080/09064700310002053>
- Schöne, F., Spörl, K. ja Leiterer, M. 2017. Iodine in the feed of cows and in the milk with a view to the consumer's iodine supply. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 39 (2017) 202–209.
- Thain, R.I. 1965. Bovine infertility possibly caused by subterranean clover: a preliminary report. *Austr. Vet. J.* 41:277-281. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1965.tb06560.x
- Trøan, G., L. Dahl, H.M. Meltzer, M. Hope Abel, U. Geir Indahl, A. Haug, E. Prestløkken, A model to secure a stable iodine concentration in milk, *Food Nutr. Res.* 59 (2015) 29829, <http://dx.doi.org/10.3402/fnr.v59.29829>.
- Tuori, M. 1992. Rapeseed meal as a supplementary protein for dairy cows on grass silage-based diet, with the emphasis on the Nordic AAT-PBV feed protein evaluation system. *Agricultural Science in Finland* 1:367-439. Väitöskirja, monografia.