



**Institutionen för husdjursgenetik**

# **Studier av koppar i mjölk - en prooxidant med negativa effekter på mjölk kvaliteten**

**av**

*Sofia Wiklund*

Handledare:

*Anne Lundén*

**Examensarbete 296**

**2007**

---

Examensarbete ingår som en obligatorisk del i utbildningen och syftar till att under handledning ge de studerande träning i att självständigt och på ett vetenskapligt sätt lösa en uppgift. Föreliggande uppsats är således ett elevarbete och dess innehåll, resultat och slutsatser bör bedömas mot denna bakgrund. Examensarbete på D-nivå i ämnet husdjursgenetik, 20 p (30 ECTS).





**Institutionen för husdjursgenetik**

# **Studier av koppar i mjölk - en prooxidant med negativa effekter på mjölk kvaliteten**

**av**

*Sofia Wiklund*

**Agrovoc:** Cow milk, copper, metabolism

Handledare:  
*Anne Lundén*

**Examensarbete 296  
2007**

---

Examensarbete ingår som en obligatorisk del i utbildningen och syftar till att under handledning ge de studerande träning i att självständigt och på ett vetenskapligt sätt lösa en uppgift. Föreliggande uppsats är således ett elevarbete och dess innehåll, resultat och slutsatser bör bedömas mot denna bakgrund. Examensarbete på D-nivå i ämnet husdjursgenetik, 20 p (30 ECTS).



## Innehållsförteckning

Förord.....	3
Sammanfattning .....	4
Abstract .....	5
Litteraturstudie .....	6
Smakfel .....	6
Oxidationssmak.....	6
Betydelsen av koppar för uppkomst av oxidationssmak.....	7
Koppars roll i kroppen .....	8
Kopparmetabolismen hos människa .....	8
Bristssymtom.....	8
Förgiftningssymtom.....	8
Kopparmetabolismen hos idisslare .....	8
Absorption.....	9
Utsöndring.....	9
Skillnader mellan arter och raser .....	9
Kopparstatus .....	10
Bristssymtom.....	10
Förgiftningssymtom.....	10
Kopparantagonister .....	10
Molybden och svavel .....	11
Järn.....	11
Kopparinnehåll i mjölk .....	11
Effekt av laktationsstadium.....	11
Fodrets inverkan.....	12
Antioxidanter .....	12
Effekt av ålder/laktationsnummer.....	12
Egen studie.....	13
Material och metoder .....	13
Statistisk analys.....	14
Resultat .....	14
Diskussion.....	18
Effekt av den individuella kon.....	18
Effekt av försöksperiod.....	19
Effekt av foderstat.....	19
Effekt av kopparantagonister i fodret .....	20
Effekt av mineralfodergiva .....	20
Slutsats .....	21
Referenser .....	22



## **Förord**

Detta examensarbete har utnyttjat data insamlade från ett tidigare försök utfört på kor stationerade på Kungsängens försöksstation, SLU, i syfte att studera flödet av mineraler och spårämnen från foder och vatten till träck, urin och mjölk. Ansvarig forskare för den studien var Dr. Gunnela Gustafson, institutionen för Husdjurens utfodring och vård, SLU, Uppsala. Ett varmt tack riktas till Gunnela för att ha tillhandahållit de data som legat till grund för examensarbetet, beredvilligt besvarat alla våra frågor och för att ha kritiskt granskat manuskriptet.

Uppsala 2007

*Sofia Wiklund & Anne Lundén*

## Sammanfattning

Smaken är sannolikt den faktor som faller avgörandet när konsumenten väljer livsmedel i butik, varför det är mycket viktigt att en produkt alltid har samma goda smak kunden förväntar sig. Smakfel hos mjölk kan orsakas av exempelvis oxidation av mjölkfettet. Då koppar är en prooxidant kan hög kopparhalt i mjölken bidra till oxidationssmak. Syftet med projektet var att undersöka om det finns skillnader mellan kor avseende hur stor andel av den totala mängden utsöndrad koppar som utsöndras via mjölken i relation till vad som utsöndras via träck respektive urin. Om så är fallet borde man kunna minska förekomsten av oxidationssmak i mjölk genom avelsåtgärder.

Smakfel hos mjölk inbegriper avvikelser i såväl lukt som smak. Flertalet av smakfelen är kopplade till fettfraktionen i mjölken. Exempelvis kan mjölkfett oxidera spontant och därmed orsaka oxidationssmak hos mjölken. Mjölkfettets fettsyrsammansättning och då främst omättnadsgraden påverkar mjölkfettets benägenhet att oxidera. Oxidationsstabiliteten hos omättat mjölkfett påverkas i sin tur av kopparinnehållet i mjölken. Problemen med spontan oxidation har enligt litteraturen bedömts vara större under vintern och våren, vilket troligen har att göra med att fodret då har lagrats en längre tid och därmed förlorat en stor del av innehållet av antioxidanter. Antioxidanterna i fråga är främst vitamin E men även betakaroten (förstadium till vitamin A) och vitamin C (askorbinsyra).

De åtta kor av rasen Svensk Röd boskap (SRB) som ingick i den föreliggande studien tillhörde endera av två selektionslinjer för hög respektive låg mjölkfetthalt i mjölken men med likvärdig och hög totalproduktion av mjölkenergi. De utfodrades med fyra olika foderstater, bestående av 30 % respektive 50 % hö alternativt ensilage, vilka alla kompletterades med kraftfoder och mineraler för att så långt möjligt ge samma innehåll av aminosyror absorberade i tunntarmen (AAT) och energi. Samtliga kor fick samtliga foderstater, men i olika ordningsföljd och varje foderstat gavs under en 5-veckorsperiod. Konsumtionen av foder mättes individuellt och analyser gjordes på träck, mjölk, urin och fodermedel (Gustafson, 2000).

Försöket visade på signifikanta skillnader i andel koppar utsöndrad i mjölk mellan de olika korna, vilket indikerar att det finns individuella skillnader i kopparmetabolism. Detta kan ha en delvis genetisk bakgrund, vilket stöds av iakttagelser gjorda på en rad andra djurslag. Resultaten indikerar att det genom avelsurval kan finnas möjligheter att minska problemet med oxidationssmak hos mjölk och därmed förbättra mejeriprodukternas lagringsstabilitet.



## **Abstract**

The taste of the dairy product is probably the main factor determining consumer's dairy products choice. Consequently it is of great importance that the product tastes good and as expected every time. Off-flavors in milk can be caused by for example oxidation of the milk fat. Since copper is a prooxidant, a high copper content in the milk can cause oxidation. The aim of this project was to investigate if there are differences between individual cows regarding the proportion of the copper totally excreted that was excreted through the milk compared to that excreted in faeces and urine. If there are differences between individual cows, this indicates a genetic influence and thus it may be possible to decrease the incidence of oxidized flavor in milk through breeding.

Off-flavors in milk are defined as unpleasant smell and/or taste of the milk. Most of the off-flavors in milk are related to the fat component of the milk. Milk fat may oxidize spontaneously and thereby cause oxidized flavor in milk. The fatty acid composition, or more specifically the degree of unsaturation of the milk fat, influences the milk fat's sensitivity to oxidation. The stability of unsaturated milk fat is also influenced by the copper content in the milk, due to the pro-oxidative characteristics of copper. The problems with spontaneous oxidation of milk fat have, according to the literature, been found to increase during the winter and spring seasons. This increase is thought to partly depend on that at that time the feed have been stored for quite some time and thereby may have lost some of its content of antioxidants. Important antioxidants in this respect may be first and foremost vitamin E, but also beta-carotene (precursor to vitamin A) and vitamin C (ascorbic acid).

The present study included eight cows of the Swedish Red and White dairy breed. The cows belonged to either of two selection lines, both selected for an equally high total production of milk energy. But one selection line was selected for a high milk fat content in the milk and the other line was selected for a low milk fat content. The cows were fed four different rations, containing 30 % or 50 % of hay or silage, respectively. Each ration was complemented with grain and concentrates to become comparable with respect to content of metabolizable energy and amino acids absorbed in the small intestine (AAT). All the cows were given all of the rations, but in a different order. Each ration was given during five weeks. The feed consumption was measured individually for each cow and analyses were made on milk, feces, urine and feeds (Gustafson, 2000).

This study showed significant differences between the different cows regarding how much of the total excreted copper that was excreted in the milk, which indicates individual differences in copper metabolism. This can have a partly genetic background, which is supported by observations on a number of other species. The results indicate that it may be possible to reduce the problem with oxidized flavour in milk through selection and thereby exceed the shelf life of dairy products.

## Litteraturstudie

Smaken hos livsmedel är kanske det främsta urvalskriteriet när konsumenten handlar i butik. Det är därför av stor vikt att konsumenten uppskattar smaken men också att han/hon kan lita på att produkten smakar som förväntat varje gång. I annat fall är risken stor att konsumenten fortsättningsvis väljer en annan tillverkare eller en annan produkt.

## Smakfel

Mjölk är ett livsmedel som ibland drabbas av smakfel. Smakfel hos mjölk inbegriper avvikelser i såväl lukt som smak. Smakfelen i mjölken indelas enligt den svenska mjölkbedömningen i följande kategorier; syrlig smak, fodersmak, oren smak, oxidationssmak, härsken smak, kemikaliesmak och lukt- och smakfel. Till kategorin lukt- och smakfel räknas undergrupperna räksmak, blåbärssmak, salt smak samt ännu odefinierade smakfel. Härsken smak är det vanligaste smakfelet, följt av oxidationssmak (Lindberg et al., 2004). Det bör noteras att vad som anses som avvikande smak varierar beroende på var i världen man befinner sig. Människor ser den smak de är vana vid som "rätt", avvikelser innebär smakfel. Många japaner upplever exempelvis australiensiskt smör som smaklöst, medan australiensare upplever japanskt smör som oxiderat i smaken (Urbach, 1990).

Smakfelen i mjölkprodukter bedöms vara vanligare förekommande under vintern och våren (Everitt, 1993b). För att undanröja smakfel hos mjölkprodukter görs smaktester av mjölken. Dessa tester görs av två oberoende bedömare enligt en tregradig skala. Mjölken klassificeras sedan beroende på bedömningsresultaten till klass 1, 1b eller 2. Klass 1 innebär att mjölken är utan avvikande lukt eller smak, klass 1b svagt smakfel och klass 2 innebär starkt smakfel (Lindberg et al., 2004).

Mejeriföreningarnas kvalitetsprogram för smakfel på mjölkråvaran skiljer sig något när det gäller exempelvis provtagningsfrekvens, avdrag på mjölkpriset och vilken typ av uppföljningssystem som används. Dessa skillnader gör det svårare att skapa en helhetsbild av i vilken utsträckning de olika smakfelen förekommer och har förekommit (Lindberg et al., 2004).

## Oxidationssmak

Det är sedan länge känt att mjölkfett kan oxidera spontant och därmed orsaka oxidationssmak på mjölken. Det är ett problem som främst förekommer på våren före betessläppet. På senare år är det flera regioner i Sverige som har drabbats av ökande problem med spontant oxiderat mjölkfett (Lindberg et al., 2004). Detta leder till ekonomiska förluster både för den enskilda mjölkproducenten och för mejeriindustrin (Barrefors et al., 1995). Vid lukt- och smakbedömning av mjölk från tankbilar är oxidationssmak det smakfel som oftast påträffas (Lindberg et al., 2004).

Uppkomsten av spontan oxidation av mjölkfettet beror på ett flertal olika faktorer (Everitt, 1993a). Fettsyrasammansättningen, och då främst dess inverkan på mjölkfettets omättnadsgrad, påverkar hur mjukt smöret blir, gräddens vispbarhet och dess nutritionella värde men också mjölkens känslighet för att spontant utveckla oxidationssmak (Morales et al., 2000). Mjölkfettet består till cirka 98 % av

triglycerider, vilka finns inuti fettkulorna. Fosfolipider och steroler finns främst i fettkulemembranet, fosfolipider utgör cirka 0.5 till 1 % av mjölkfettet och steroler 0.2 till 0.5 % (Jensen et al., 1991). Komponenterna som ger oxidationssmak på mjölken bildas troligen främst av fosfolipider, detta på grund av fosfolipidernas omättnadsgrad och då de i fettkulemembranet är utsatta för prooxidanter och syre i mjölken (Nicholson, 1993).

Mjölkfettets triglycerider består av drygt 20 olika fettsyror. Fettsyrorna innehåller mellan 4 och 24 kolatomer, av vilka fettsyror med 16 eller 18 kolatomer är de vanligast förekommande. Fettsyrornas egenskaper påverkas främst av antalet kolatomer och hur många dubbelbindningar fettsyran innehåller. Oxidationsrisken ökar med antalet dubbelbindningar. De flesta fettsyrorna i mjölk är mättade, kortkedjiga fettsyror. De omättade fettsyrorna i mjölk utgörs huvudsakligen av oljesyra (C18:1), linolsyra (C18:2) och linolensyra (C18:3). Linolsyra oxiderar 64 gånger snabbare än oljesyra, medan linolensyra oxiderar hela 100 gånger snabbare än oljesyra (Bævre et al., 2000).

Andra faktorer som kan orsaka spontan oxidation av mjölkfett är till exempel variationer i innehållet av metalljoner i mjölken samt inverkan av foderstatens sammansättning (Everitt, 1993a). Även underutfodring av höglakterande kor kan leda till oxidationssmak hos mjölken, på grund av att kon tvingas bryta ner kroppsfett vilket ökar andelen omättade fettsyror i mjölken. Huruvida dessa orsakar oxidationssmak eller inte beror till stor del på tillgången på antioxidanter i mjölken, särskilt vitamin E (Bævre et al., 2000). Enligt Nicholson (1993) är förekomsten av oxidationssmak högre under vinter- och vårmånaderna, särskilt i områden där korna går på sommarbete. En trolig orsak till detta kan vara att intaget av vitamin E blir relativt lågt när korna utfodras med grovfoder som lagrats under en längre tid.

Hanteringen av mjölken under vägen från juvret till mejeriet är också av betydelse. Ovarsam hantering kan leda till oxidationsproblem då fettkulemembranen brister och fettet blir mer tillgängligt för syre (Everitt, 1993a). Stress är ytterligare en faktor som påverkar utvecklingen av spontan oxidationssmak på mjölken. Orsaker till stress kan vara förändringar i foderstaten, sjukdomar eller att kon mobbats av äldre djur (Bævre et al., 2000). Mjölkfettets oxidationsbenägenhet varierar mellan kor, vilket indikerar en genetisk inverkan (Lindberg et al., 2004).

### **Betydelsen av koppar för uppkomst av oxidationssmak**

Oxidationsbenägenheten hos omättat mjölkfett påverkas av kopparinnehållet i mjölken, eftersom koppar är en prooxidant (Morales et al., 2000). När mjölkfett oxiderar bildas bland annat ämnen som även i låga koncentrationer kan orsaka smakfel i mjölken. Fettoxidation i mjölk och mjölkprodukter börjar som nämnts ovan vanligen med fosfolipiderna i fettkulemembranet, dessa lipider består av en hög andel omättade fettsyror. Koppar, som är den främsta katalysatorn av oxidationsprocessen, förekommer i membranet men inte i fettkulornas inre. Koppar som kontaminerat mjölken efter mjölkningen är en mer aktiv katalysator än den koppar som förekommer naturligt i mjölken (Walstra et al., 1999).

Koppar är främst bundet till kaseinet i mjölken, men vid upphettning, som till exempel vid pastörisering, migrerar kopparjonerna till fettfasen. Reducerad koppar i kombination med hög andel omättade fettsyror i fettkulemembranet torde öka risken

för spontan oxidationssmak och är således en följd av en signifikant samspelseffekt (Timmons et al., 2001). Inblandning av mjölk med oxidationssmak har begränsad effekt på smaken hos mjölken i gårdstanken beroende på att frekvensen av kor som producerar mjölk med oxidationssmak ofta är låg. För att smakfelet ska märkas krävs att fler än cirka 30 % av korna i en besättning är drabbade (Granelli et al., 1998).

### ***Koppars roll i kroppen***

Koppar har betydelse för reproduktion, skelettutveckling, tillväxt och pigmentering (Underwood & Suttle, 1999), men även för bildandet av hemoglobin (McDonald et al., 2002). På vilket sätt koppar har betydelse för bildandet av röda blodkroppar är ännu inte klarlagt. Koppar antas dock vara inblandat i absorptionen av järn via tarmen och i dess mobilisering från vävnader under hemoglobinsyntesen (Underwood & Suttle, 1999; McDonald et al., 2002). Koppar är också en viktig komponent i andra blodproteiner och spelar en betydande roll för ett flertal enzymer i kroppen, exempelvis för superoxid dismutas vilket ingår som en komponent i cellens antioxidationssystem (McDonald et al., 2002).

### **Kopparmetabolismen hos människa**

Koppar från födan absorberas i kroppen genom tarmen och transporteras till levern via blodet. En stor andel av kopparn åtgår för att bilda ceruloplasmin i levern som återförs till blodet och därefter ut till kroppens olika vävnader. Ceruloplasmin fungerar som kopparkälla för cellerna i många olika vävnader (Wooten et al., 1996). Ceruloplasmin innehåller sex kopparatomer per molekyl och utgör ungefär 90 % av kopparn i blodplasma (Danks, 1988). Studier har visat att ceruloplasmin katalyserar oxidationen av järn, en nödvändig process för att järnet ska kunna bilda transportproteinet transferrin. Ceruloplasmin kallas även ferroxidas (Davis & Mertz, 1987). Kopparnivåerna i kroppen ökar med ökat intag, men absorberas då mindre effektivt, dvs. en lägre andel av intaget koppar tas upp (Turnlund, 1998).

#### *Bristssymtom*

Kopparbrist kan leda till blodbrist, neutropeni (brist på neutrofiler i blodet) samt skört skelett vilket kan resultera i benbrott (Uauy et al., 1998). Diarré har visat sig vara en viktig orsak till kopparbrist hos barn, troligen beroende på störningar i absorptionen (Danks, 1988). Höga intag av zink och järn minskar kopparabsorptionen och kan då leda till kopparbrist. Kopparbrist kan också uppstå i samband med olika sjukdomar, t ex glutenintolerans och cystisk fibros (Uauy et al., 1998).

#### *Förgiftningssymtom*

Akut kopparförgiftning hos människor beror oftast på oavsiktlig förtäring av kopparsulfat. Detta drabbar vanligen barn, med bland annat magsmärtor, yrsel, kräkningar och diarréer som följd (Davis & Mertz, 1987). Nyligen drabbades ett antal barn av kraftiga kräkningar sedan de druckit saft som blandats med vatten från en egen brunn på en öppen förskola. Vattnet i brunnen hade mycket hög kopparhalt, 7.5 mg per liter att jämföra med den tillåtna nivån på 0.2 mg per liter (Rung Klint, 2006).

### **Kopparmetabolismen hos idisslare**

Kopparmetabolismen hos nötkreatur påverkas av såväl mängden koppar i fodret som i vilken kemisk form den förekommer (Du et al., 1996).

### *Absorption*

Koppar absorberas sämre hos idisslare än hos enkelmagade djur, vilket till stor del beror på komplexa interaktioner i våmmen. Innan våmmen har utvecklats är absorptionen av koppar hos lamm hög (70-85 % av intaget), för att sedan avta till mindre än 10 % efter avvänjningen (Spears, 2003). Hos dräktiga djur ställer fosterutvecklingen höga krav på tillgången på samtliga näringsämnen, inklusive mineraler. Om inte foderstaten täcker behovet påverkas fostrets utveckling och kons hälsa (Xin et al., 1993). Anpassning till variationer i kopparintaget uppnås främst genom lagring i levern och utsöndring via gallan (Underwood & Suttle, 1999).

### *Utsöndring*

Koppar utsöndras främst via träcken, medan mindre än 1 % utsöndras via urinen (Chase et al., 2000). Mängden koppar som utsöndras via urin är mycket låg under normala förhållanden. Det beror på att koppar som cirkulerar i blodet till största delen är bunden till ceruloplasmin eller röda blodkroppar varför en väldigt låg andel koppar tar sig förbi de globulära kapillärerna (Fuentealba & Aburto, 2003). Mängden koppar som utsöndras via urin uppgår enligt en studie till cirka 1.1 mg per dag, att jämföra med de cirka 280 mg som utsöndras via träck (Chase et al., 2000). Den största delen av den koppar som återfinns i träcken har dock aldrig absorberats utan gått rakt igenom djuret. Den återstående delen koppar i träcken har utsöndrats via gallan (Davis & Mertz, 1987). Mjök har beräknats innehålla ungefär 0.5 % av totala mängden koppar som utsöndrats (Chase et al., 2000).

### *Skillnader mellan arter och raser*

Kopparmetabolismen tycks bland annat påverkas av genetiska faktorer. Exempel på ärftliga åkommor kopplade till störningar i kopparmetabolismen är Wilsons sjukdom hos människa vilken resulterar i ackumulering av koppar i lever, hornhinnor och hjärna (se review av Fuentealba & Aburto, 2003). Även andra genetiska störningar i kopparmetabolismen förekommer, bland andra hos hundrasen Bedlington terrier. Koppar ackumuleras härvid i levern genom att störningar i kopparutsöndringen minskar utsöndringen via gallan, vilket leder till kronisk hepatit (van de Sluis et al., 2002). Andra raser som drabbas av olika former av störningar i kopparmetabolismen är West highland white terrier, Skye terrier (se review av Fuentealba & Aburto, 2003) och dalmatiner (Noaker et al., 1999). Liknande ”koppartoxikos” drabbar även råttor av typen Long Evans Cinnamon (Shim & Harris, 2003) och ”toxic milk”-möss (Theophilos et al., 1996).

Olika fårraser skiljer sig avseende koncentrationen av koppar i plasma respektive lever (Kincaid, 1999). Littledike et al. (1995) fann efter utfodringsförsök att kopparkoncentrationen i levern är signifikant högre hos Limousin än hos åtta andra västerländska kötraser. Den högre kopparkoncentrationen hos Limousin kan tyda på att rasen kan absorbera koppar mer effektivt och därmed löper mindre risk att drabbas av kopparbrist när tillgängligheten på koppar är begränsad. Studien visade dock också att Limousin hade minst lever i förhållande till kroppsvikten och högst zinkkoncentration i levern, vilket snarare tyder på att den högre kopparkoncentrationen är en anpassning till en mindre lever, snarare än att raser har olika effektiv kopparinlagring. Kopparmetabolismen verkar även skilja mellan kor av Jersey respektive Holstein-ras. Enligt Du et al. (1996) inlagrar Jersey-kor koppar i levern något snabbare än Holstein om de utfodras samma kopparrika foderstat *ad libitum*.

## **Kopparstatus**

Ett enstaka mått på kopparkoncentrationen i blodplasma är en dålig indikator på nötkreaturs kopparstatus, på grund av att det finns säsongsbunden variation både hos dräktiga och icke dräktiga djur (Smart & Christensen, 1985). Blodanalyser, som kan anses enklare att genomföra, har ett flertal brister bland annat beroende på de röda blodkropparnas livslängd. Då de har en livslängd på cirka 160 dagar förändras mineralkoncentrationen i blod mycket långsamt, vilket kan leda till en felaktig bild av djurets aktuella mineralstatus (Kincaid, 1999). Djurets status av koppar och andra spårämnen i kroppen beskrivs istället bäst av koncentrationen i levern (Kincaid, 1999). Koppar antas finnas i alla kroppens celler, men är speciellt koncentrerad till levern, vilken fungerar som den främsta lagringsplatsen av koppar i kroppen (McDonald et al., 2002). Förutom interaktioner med andra spårämnen har proteinnivåerna liksom nivån av svavelinnehållande aminosyror i fodret visats sig ha en viss inverkan på kopparkoncentrationen i levern hos djur (Davis & Mertz, 1987).

### *Bristsymtom*

Kopparbrist hos idisslare kan bero på låg tillgänglighet av koppar i fodret, men också på en hög koncentration i fodret av molybden, svavel och/eller järn (Humphries et al., 1983). Idisslare har en viss tolerans mot kopparbrist beroende på digestionsprocesser i våmmen som degraderar organiska och oorganiska svavelkällor till sulfid (Underwood & Suttle, 1999). Symtom på kopparbrist kan vara dålig tillväxt, avmagring, blek hårrem, blodbrist (Ammerman, 1970) och infertilitet (McDonald et al., 2002).

Hur mycket koppar fodret innehåller beror till en viss del på kopparinnehållet i marken, men dränering och vilka växtarter som ingår i fodret har också betydelse (McDonald et al., 2002). Koppars är ojämnt fördelad i gräs, bladen innehåller 35 % mer koppar än stjälken, den totala mängden koppar i plantan minskar dessutom allteftersom gräset mognar (Underwood & Suttle, 1999).

### *Förgiftningssymtom*

Idisslare är känsligare för höga kopparhalter i fodret än enkelmagade djur och drabbas följaktligen lättare av kopparförgiftning (Du et al., 1996). Får är därtill känsligare än nötkreatur, känsligheten varierar dock mellan fårraser (Du et al., 1996; Auza et al., 1999). Får kan drabbas av kopparförgiftning när innehållet i fodret är onormalt högt eller vid normala halter i fodret kombinerat med mycket låga halter molybden. Får som utfodrats med foder avsett för grisar, med tillsatt koppar för att stimulera tillväxt, har också drabbats av kopparförgiftning (Davis & Mertz, 1987).

## **Kopparantagonister**

Rekommenderad mängd koppar i totalfoderstaten till mjölkkor är 11 mg/kg ts foder för mjölkande och 13 mg/kg ts foder för sinkor (Spörndly, 2003). Hur koppars metaboliseras i kroppen påverkas dock av ett flertal olika faktorer, som till exempel svavel-, molybden- och proteininnehållet i fodret. Detta gör det svårt att precisera behovet av koppartillsatser i en foderstat och likaså att förutspå vid vilken nivå halten riskerar att vara toxisk (Ammerman, 1970).

Molybden, svavel och järn är exempel på antagonister som har visats sig bidra till kopparbrist (hypocuprosis) genom att bilda olösliga kopparkomplex i mag-tarmkanalen samt i blodomlopp och vävnader hos idisslare (Bailey et al., 2001).

#### *Molybden och svavel*

Molybden och svavel har antagonistiska effekter på kopparupptaget från fodret (Chase et al. 2000). Molybden och svavel förekommer naturligt i fodret och bildar thiomolybdat i våmmen med hjälp av mikroorganismer (Spears, 2003). Molybdens effekt på kopparabsorptionen är komplex, men det anses att ämnet enbart har en begränsande effekt på kopparupptaget när svavel finns närvarande. Mikroorganismerna i våmmen bildar sulfid av sulfat från fodret eller av organiska svavelkomponenter. Sulfiden reagerar i sin tur med molybdat och bildar thiomolybdat, vilket sedan bildar en kemisk förening tillsammans med koppar och bildar olösligt koppar-thiomolybdat ( $\text{CuMoS}_4$ ). Detta leder till en begränsning av kopparabsorptionen i kroppen. Om thiomolybdat bildas i överskott är det möjligt att det absorberas i mag-tarmkanalen och därigenom ger upphov till en systematisk effekt på djurets kopparmetabolism. Metabolismen påverkas bland annat av ökad kopparutsöndring från levern via gallan och minskad transport av tillgängligt koppar genom en stark bindning av koppar till plasmaalbumin (McDonald et al., 2002).

#### *Järn*

Många foderstater till mjölkkor innehåller högre järnkonzentrationer än vad NRC (National Research Council) rekommenderar. Endast ett fåtal studier har gjorts avseende interaktion mellan koppar och järn hos mjölkkor, varför Chase et al. (2000) undersökte järn som antagonist till koppar. De observerade att ett fodertillskott på 500 mg järn per kg ts ledde till lägre kopparhalt i levern. Detta under förutsättning att korna inte samtidigt fick koppartillskott. Ett flertal studier visar att ett järntillskott på 250-1200 mg järnkarbonat per kg foder har en starkt reducerande effekt på kopparstatusen hos både nötkreatur och får. Kopparstatusen hos mjölkutfodrade kalvar påverkas dock inte av järntillsatsen, vilket skulle kunna innebära att det krävs en utvecklad våm för att järn ska kunna påverka kopparmetabolismen. Det är inte klarlagt om järns och molybdens antagonistiska effekter på koppar är additiva (Spears, 2003).

### ***Kopparinnehåll i mjölk***

Mjölk innehåller i genomsnitt 25  $\mu\text{g}$  koppar per liter, men koncentrationen har rapporterats variera mellan 10 och 1200  $\mu\text{g}$  per liter (Davis & Mertz, 1987). För mejeriindustrin är kopparinnehållet i mjölken av betydelse beroende på dess tidigare nämnda katalytiska effekt på oxidationsprocessen i mjölkfettet.

### **Effekt av laktationsstadium**

Kolostrum har högre kopparhalt än mjölk, kopparhalten verkar dessutom sjunka allteftersom laktationen fortlöper (Davis & Mertz, 1987). Enligt Nicholson (1993) har inte laktationsstadiet någon större inverkan på förekomsten av oxidationssmak; trots högre kopparhalt i mjölken under tidig laktation var det tendenser till högre förekomst av smakfel i mitten och slutet av laktationen. Troligen beror ökningen på att andelen omättade fettsyror i fosfolipiderna ökar med laktationsstadium. Senare undersökningar (Bævre et al., 2000; Lundén et al., 2007, manuskript) har dock visat att kopparhalten i mjölken är högre i början av laktationen. Mjölken har också i ett

flertal fall visat sig vara mer oxidationsbenägen under perioden närmast efter råmjölkperioden, hur lång tid efter är dock individuellt. Det kan röra sig om månader men också kortare perioder eller periodvis återkommande.

### **Fodrets inverkan**

Kopparinnehållet i fodret har relativt liten påverkan på kopparinnehållet i mjölken. Koppar transporteras aktivt i juvret och halten i mjölken regleras (Miller, 1975). I en dansk studie av Havemose et al. (2006), jämfördes kopparinnehållet i mjölk mellan två grupper Holstein kor som utfodrats med gräs-klöverensilage respektive hö som grovfoder. Man fann då inga signifikanta skillnader avseende kopparhalten i mjölken mellan de båda grupperna. Det saknades dock uppgifter om huruvida det två foderstaterna skilde avseende kopparinnehåll.

#### *Antioxidanter*

Både naturligt förekommande såväl som tillsatta antioxidanter i fodret och i mjölken uppges förhindra uppkomsten av oxidationsfel (Everitt, 1993a). Den vanligast förekommande antioxidanten i fettkulemembranet är  $\alpha$ -tokoferol, dvs. vitamin E (Nicholson, 1993). Andra viktiga antioxidanter i mjölk och i foder är betakaroten, ett förstadium till vitamin A och vitamin C (askorbinsyra) (Everitt, 1993a; Walstra et al., 1999). Vitamin E är ett fettlösligt vitamin som ingår i fettkulemembranet och skyddar fettkulorna mot fria radikaler (Bævre et al., 2000). Det finns tre gånger mer tokoferol i fettkulemembranet än inne i fettkulorna (Bævre et al., 2000; Nicholson, 1993). Överföringsgraden av tokoferol från fodret till mjölken är dock låg, bara 2-4 % (Bævre et al., 2000).

Det är vanligtvis relativt högt innehåll av vitamin E i växter som innehåller mycket omättat fett. Olämpliga skördeförhållanden och lång lagringstid sänker dock halten av vitaminet. Gräs är en växt som innehåller höga halter omättat fett och vitamin E, innehållet minskar dock ju senare det skördas. Vitaminet bevaras bättre vid ensilering än vid höberedning, vid höberedning kan innehållet av vitamin E minska med upp till 90 %. Förtorkning tros ha liknande effekt varför den ökade användningen av rundbalar kan ha bidragit till en lägre tillförsel av vitamin E via fodret (Bævre et al., 2000).

### **Effekt av ålder/laktationsnummer**

Mjölk från yngre kor, dvs. första- och andrakalvare, verkar generellt ha en högre kopparhalt än mjölk från äldre djur (Nicholson, 1993; Bævre et al., 2000). Eventuellt kan kornas hormonstatus ha en viss inverkan. Möjligt är också att eftersom de yngre djuren fortfarande växer, befinner de sig i en negativ energibalans i större utsträckning än äldre djur (Nicholson, 1993). Det har noterats att släktskapen mellan korna visar samband med förekomst av återkommande oxidationssmak i mjölken, eventuellt via genetiskt betingad variation i mjölkens kopparhalt (Everitt, 1993a).



## **Egen studie**

Syftet med projektet var att undersöka om det finns skillnader mellan kor avseende hur stor andel av den totala mängden koppar som utsöndras via mjölken, i relation till vad som utsöndras via träck respektive urin. Om så är fallet, borde man kunna minska förekomsten av oxidationssmak i mjölk med avelsåtgärder.

## **Material och metoder**

Föreliggande studie har bestått av en bearbetning av data från ett utfodringsförsök som genomfördes våren 1996 på Kungsängens forskningsstation, SLU, Uppsala och som omfattade åtta kor av SRB-ras (Gustafson, 2000). Syftet med utfodringsförsöket var att belysa foderstatens inverkan på hur utsöndrade mineraler och spårämnen fördelas mellan mjölk, träck och urin. Däremot belystes inte skillnader mellan individuella kor. Korna tillhörde endera av två selektionslinjer för hög respektive låg torrsubstanshalt i mjölken men med likvärdig och hög totalproduktion av mjölkenergi. Fyra kor från respektive selektionslinje ingick i försöket, ett change-over-försök i form av en ”romersk kvadrat” med 4 foderstater. Detta försöksupplägg innebär att samtliga kor fick samtliga foderstater, men i olika ordning. Syftet med change-over-försök är att minska inverkan av skillnader mellan individer på jämförelser mellan perioder och behandlingar (Jones, 1989). Korna befann sig i andra till sjätte laktationen och var vid första analystillfället (försöksperioden) i 15-21 laktationsveckan.

Korna stod uppbundna och mjölkades två gånger per dag. De utfodrades med grovfoder fyra gånger dagligen och med kraftfoder fem gånger. De gavs fyra alternativa foderstater, bestående av 30 % eller 50 % av den totala torrsubstansen i form av hö alternativt ensilage kompletterat med kraftfoder och mineraler för att ge ett likvärdigt innehåll av aminosyror absorberade i tunntarmen (AAT) och energi. Varje foderstat gavs under en 5-veckorsperiod där mätningarna gjordes under de sista två veckorna i varje period för att undvika att effekter av föregående foderstat påverkade resultatet. I samband med övrig utfodring tilldelades 100 g mineraler två gånger dagligen och de hade fri tillgång till saltsten (NaCl). Kraftfodret bestod av en blandning av 40 % korn, 25-29 % vete, 17-18 % rapsmjöl och resten vetekli, melass, fett, CaCO<sub>3</sub> och urea.

Foderkonsumtion och vattenintag mättes individuellt för varje ko. Individuella prover togs i mjölk, träck och urin. Analyser gjordes av mjölkens innehåll av fett, protein, laktos och mineraler samt för mineralinnehåll i träck och urin. Under de två sista dygnet i slutet av varje period samlades all mjölk och urin för analys, medan träckprover togs rektalt två gånger per dag samma dagar som mjölk och urin samlades. Insamlingen av urin gjordes genom att en urinuppsamlare fästes nära kons vulva. Urinen leddes sedan från insamlaren via en slang till en flaska placerad i isvatten för att förhindra ammoniak förluster. Den totala mängden träck beräknades genom att analysera mängden ”syräolöslig” aska i fodret och motsvarande koncentration i träcken. Baserat på antagandet att askan inte tas upp av kroppen, användes dessa värden för att skatta den totala mängden träck per ko.

## Statistisk analys

För de statistiska analyserna av data användes PROC GLM i SAS 8.1 (SAS, 1999). Modellen som användes var:

$$Y_{ijklm} = \mu + fstat_i + b \times lst_j + per_k + ko_l + e_{ijklm}$$

där

- $Y_{ijklm}$  = andelen utsöndrad koppar i mjölk, träck respektive urin av total mängd utsöndrad koppar  
 $\mu$  = medelvärde  
 $fstat_i$  = fix effekt av foderstat i (i = 1, 2... 4)  
 $b$  = regressionskoefficient för andelen utsöndrad koppar i mjölk, träck respektive urin på laktationsstadium  
 $lst_j$  = fix effekt av laktationsstadium j  
 $per_k$  = fix effekt av försöksperiod k (k = 1, 2... 4)  
 $ko_l$  = fix effekt av ko l (l = 1, 2... 8)  
 $e_{ijklm}$  = residualvarians

Initialt testades en modell där även effekter av selektionslinje, laktationsnummer, mjölmängd och mjölksammansättning ingick. Dessa effekter utgick ur modellen då de saknade effekt på utsöndringen av koppar.

## Resultat

Medelvärden och spridningsmått för de individuella kornas mjölkavkastning och fett-, protein- och laktoshalt i mjölken finns angivet i Tabell 1. Motsvarande information för mängden koppar utsöndrad i mjölk, träck respektive urin redovisas i Tabell 2. Registreringar från den första försöksperioden saknas för fyra av korna på grund av tekniska problem i ladugården. Registreringen från ko nummer 1 i försöksperiod 3 uteslöts ur den statistiska analysen på grund av ett orimligt högt värde (14,5 mg) för mängd koppar i urinen jämfört med övriga observationer i studien. Det extrema värdet antas bero på kontamination av träck i den uppsamlade urinen.

Tabell 1. Dygnsmedelvärden och standardavvikelser för mjölmängd samt halter av fett, protein och laktos i mjölken från individuella kor samt min- och maxvärden för mjölmängd (kg)

Individ	N <sup>1</sup>	Mjölmängd, kg				Fett, %		Protein, %		Laktos, %	
		$\bar{x}$	SD	Min	Max	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
1	3	18,40	1,82	16,3	19,6	5,31	0,151	3,74	0,072	4,42	0,039
2	3	17,03	2,27	14,6	19,1	5,90	0,312	3,61	0,109	4,51	0,133
3	4	27,31	4,82	21,0	32,5	3,90	0,281	3,15	0,086	4,65	0,091
4	4	28,11	3,34	23,5	31,4	4,41	0,176	3,06	0,171	4,41	0,077
5	4	27,09	2,28	24,7	29,7	4,19	0,234	3,25	0,143	4,64	0,030
6	3	18,60	4,72	14,6	23,8	5,72	0,073	4,04	0,080	4,44	0,040
7	3	17,87	2,03	16,5	20,2	5,63	0,410	3,95	0,040	4,55	0,058
8	4	23,75	3,40	19,9	28,1	4,60	0,223	3,36	0,132	4,75	0,098

<sup>1</sup> Antal observationer (N) varierar mellan korna då registreringar saknas för försöksperiod 1 avseende korna i linje H (ko nr 1, 2, 6 och 7).

Tabell 2. Dygnsmedelsvärden, standardavvikelser samt min- och maxvärden för mängd koppar utsöndrad i mjölk, träck respektive urin från individuella kor.

Individ	N <sup>1</sup>	Koppar (mg) i mjölk				Koppar (mg) i träck				Koppar (mg) i urin			
		$\bar{x}$	SD	Min	Max	$\bar{x}$	SD	Min	Max	$\bar{x}$	SD	Min	Max
1	3	1,50	1,37	0,0	2,7	206,50	58,32	145,8	262,1	5,53	7,84	0	14,5
2	3	1,86	0,31	1,6	2,2	253,67	47,57	217,3	307,5	0,47	0,45	0	0,9
3	4	2,05	0,90	1,0	3,2	206,38	23,49	187,0	234,7	1,63	2,23	0	4,9
4	4	2,05	1,35	0,6	3,3	229,53	33,17	188,9	267,5	1,13	0,86	0	2,1
5	4	2,33	1,08	1,2	3,6	239,38	41,23	181,5	269,2	0,00	0,00	0	0,0
6	3	2,07	0,31	1,8	2,4	257,77	65,50	188,1	318,1	0,37	0,64	0	1,1
7	3	1,67	0,70	1,0	2,4	218,77	28,77	192,8	249,7	0,17	0,29	0	0,5
8	4	2,50	1,03	1,3	3,5	238,76	26,13	208,8	272,4	0,86	0,76	0	1,8

<sup>1</sup> Antal observationer (N) varierar mellan korna då registreringar saknas för försöksperiod 1 avseende korna i linje H (ko nr 1, 2, 6 och 7).

Differensen mellan dagligt kopparintag och utsöndrad koppar beräknades i genomsnitt över samtliga kor i försöket till 32,1 mg, med en standardavvikelse på 44,6 mg. Spännvidden var dock mycket stor, maximivärdet var hela 130,5 mg medan minimivärdet var -76,7 mg, med andra ord översteg utsöndringen i vissa fall intaget. Motsvarande värden för individuella kor visas i Tabell 3. Sju av de åtta korna som ingick i försöket hade ett negativt minimivärde för differensen mellan intag och utsöndring av koppar. Denna obalans mellan dagligt intag och utsöndring av koppar tyder på att koppar inlagras i kroppen under en längre eller kortare tid. Dagsintaget tycks med andra ord ha låg relevans för den under samma dag utsöndrade mängden. Det innebär också att en analys av skillnader inom dag mellan kor avseende andel utsöndrad koppar i mjölk i relation till intaget blir ganska ointressant. Istället jämfördes hur utsöndrad koppar fördelades mellan de olika vävnaderna mjölk, träck och urin. I den statistiska analysen användes foderstat som en grov korrektion för skillnader i kopparintag.

Tabell 3. Medelvärden och standardavvikelser för totalt kopparintag respektive utsöndrad koppar, samt medelvärde, standardavvikelse och min- och maxvärde för differensen mellan intagen och utsöndrad mängd koppar

Individ	N	Kopparintag		Kopparutsöndring		Differens (intag minus utsöndring)			
		$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	Min	Max
1	3	264,70	12,20	213,53	65,70	51,17	77,47	-24,3	130,5
2	3	259,83	15,46	256,00	47,42	3,83	46,11	-49,0	36,0
3	4	275,58	39,07	210,05	23,84	65,53	23,10	41,6	96,0
4	4	267,13	17,61	232,70	32,03	34,43	35,31	-6,8	76,6
5	4	269,86	30,60	241,70	41,72	28,18	45,29	-15,0	72,4
6	3	264,50	43,06	260,20	65,775	4,30	70,15	-76,7	45,6
7	3	243,40	6,51	220,60	28,25	22,80	29,97	-6,5	53,4
8	4	262,70	19,52	242,15	27,07	20,55	37,77	-31,1	50,3

<sup>1</sup> Antal observationer (N) varierar mellan korna då registreringar saknas för försöksperiod 1 avseende korna i linje H (ko nr 1, 2, 6 och 7).

Inverkan av foderstat, laktationsstadium, provtagningsperiod och individ (ko) på hur stor andel av totalt utsöndrad koppar som utsöndras i mjölk, träck respektive urin visas i Tabell 4. För andelen koppar utsöndrad i mjölk iaktogs signifikanta effekter vad gäller samtliga parametrar som ingick i modellen. Försöksperioden är dessutom av signifikant betydelse för samtliga utsöndringsvägar, medan effekter av individuella

kor endast iaktogs för utsöndringen av koppar via mjölken. För andelen koppar utsöndrad via träck iaktogs signifikanta skillnader mellan foderstater och mellan försöksperioder.

Tabell 4. Effekter av foderstat, laktationsstadium, försöksperiod och individ på andelen utsöndrad koppar i mjölk, träck respektive urin

Parameter	Andel utsöndrad koppar i:		
	Mjölk	Träck	Urin
Foderstat	*	*	n.s. <sup>1</sup>
Laktationsstadium	**	n.s. <sup>1</sup>	*
Försöksperiod	***	*	*
Ko	*	n.s. <sup>1</sup>	† <sup>2</sup>

<sup>1</sup>n.s. = ej signifikant

<sup>2</sup>† =  $P < 0.10$

Av Tabell 5 framgår att foderstaten ensilage 30 % (E30) skilde sig från foderstaterna hö 50 % (H50) och ensilage 50 % (E50) både när det gäller andelen utsöndrad koppar i mjölk och i träck. Andelen koppar utsöndrad i urin skilde sig däremot inte mellan foderstaterna. Av tabellen framgår även att andelen koppar utsöndrad i mjölk ökade med stigande försöksperiod. Det omvända förhållandet gällde för andelen koppar utsöndrad via urin. Skillnaderna i andelen koppar utsöndrad i mjölk, träck och urin mellan individuella kor var signifikanta i flertalet fall.

Tabell 5. Effekter av olika foderstater samt försöksperioder och individuella kor på andelen utsöndrad koppar (%) i mjölk, träck respektive urin

Parameter	Andel (%) utsöndrad koppar i:		
	Mjölk	Träck	Urin
	Estimat ± SE	Estimat ± SE	Estimat ± SE
<b>Foderstat</b>			
Hö 50 %	0.036 ± 0.232 <sup>b</sup>	98.458 ± 0.474 <sup>b</sup>	1.506 ± 0.470 <sup>a</sup>
Hö 30 %	0.156 ± 0.236 <sup>ab</sup>	98.078 ± 0.483 <sup>ab</sup>	1.766 ± 0.478 <sup>a</sup>
Ensilage 50 %	-0.097 ± 0.236 <sup>b</sup>	98.601 ± 0.484 <sup>b</sup>	1.497 ± 0.479 <sup>a</sup>
Ensilage 30 %	0.342 ± 0.266 <sup>a</sup>	97.722 ± 0.545 <sup>a</sup>	1.936 ± 0.540 <sup>a</sup>
<b>Försöksperiod</b>			
1	-4,93 ± 1.834 <sup>a</sup>	93,59 ± 3.760 <sup>a</sup>	11,35 ± 3.718 <sup>a</sup>
2	-2,04 ± 0.795 <sup>b</sup>	96,78 ± 1.629 <sup>a</sup>	5,25 ± 1.612 <sup>b</sup>
3	1,54 ± 0.303 <sup>c</sup>	100,1 ± 0.622 <sup>a</sup>	-1,64 ± 0.615 <sup>c</sup>
4	5,87 ± 1.430 <sup>d</sup>	102,38 ± 2.930 <sup>a</sup>	-8,26 ± 2.90 <sup>d</sup>
<b>Ko</b>			
1	-1,21 ± 0.473 <sup>a</sup>	98,05 ± 0.970 <sup>a</sup>	3,16 ± 0.960 <sup>a</sup>
2	0,76 ± 0.142 <sup>b</sup>	98,72 ± 0.290 <sup>b</sup>	0,52 ± 0.289 <sup>b</sup>
3	-0,18 ± 0.354 <sup>c</sup>	97,39 ± 0.725 <sup>c</sup>	2,78 ± 0.712 <sup>a</sup>
4	-2,44 ± 0.985 <sup>d</sup>	96,06 ± 2.017 <sup>d</sup>	6,39 ± 1.996 <sup>c</sup>
5	1,27 ± 0.142 <sup>e</sup>	99,28 ± 0.292 <sup>e</sup>	-0,55 ± 0.289 <sup>d</sup>
6	0,89 ± 0.146 <sup>b,e</sup>	98,58 ± 0.298 <sup>f</sup>	0,54 ± 0.295 <sup>b</sup>
7	-0,29 ± 0.359 <sup>c</sup>	98,23 ± 0.735 <sup>c</sup>	2,06 ± 0.728 <sup>e</sup>
8	2,08 ± 0.324 <sup>f</sup>	99,41 ± 0.664 <sup>g</sup>	-1,50 ± 0.657 <sup>d</sup>

a, b, c, d, e, f, g Värden inom parameter inom kolumn med olika bokstäver är signifikant skilda ( $P < 0.05$ )

Då andelen utsöndrad koppar i mjölken skilde mellan foderstaterna undersöktes ett eventuellt samband med foderstaternas innehåll av dels koppar och dels av antagonisterna molybden, järn och svavel (Tabell 6). Ett högt innehåll av kopparantagonister skulle eventuellt kunna medföra att andelen koppar utsöndrad i träck ökar. Rekommenderat mineralintag per kg ts foder för mjölkande kor är för järn 20 mg, svavel 2 g och koppar 11 mg (Spörndly, 2003), medan rekommendationer för molybden saknas. Foderstaterna som ingick i försöket visade sig innehålla upp till 20 gånger mer järn än rekommenderat, med högsta värdet för E50, medan halterna av koppar och svavel stämde ganska väl överens med gällande rekommendationer. Den höga järnhalten i foderstaten E50 sammanföll med en signifikant högre andel koppar utsöndrad i träck med denna foderstat.

Tabell 6. Innehållet av koppar, molybden, järn och svavel i fyra försöksfoderstater

Parameter	Innehåll i mg per kg foderstat <sup>1</sup>			
	Cu	Mo	Fe	S
Hö 50 %	14,52	0,95	103,99	2105,41
Hö 30 %	14,87	1,16	110,54	2218,40
Ensilage 50%	16,55	1,73	415,52	2216,89
Ensilage 30 %	15,67	1,58	289,67	2272,87

<sup>1</sup>Det sammanlagda innehållet av respektive ämne i hö och/eller ensilage samt kraftfoder, mineraler och vatten.

Graden av statistisk signifikans speglar inte nödvändigtvis en parameters betydelse för variationen i egenskapen i fråga. För att illustrera hur stor del av variationen varje parameter förklarade, relativt de övriga parametrarna, beräknades minskningen av residualvariansen vid uteslutning av en parameter i taget ur den statistiska modellen (Tabell 7). Den parameter som förklarade störst andel av variationen i andelen koppar utsöndrad i mjölk var försöksperiod, följt av ko och laktationsstadium. Minst andel av variationen förklarades av foderstat. De faktorer som spelade den främsta rollen vad gäller andelen koppar utsöndrad i träck var försöksperiod och foderstat, medan motsvarande faktorer vad gäller urin utgjordes av laktationsstadium, försöksperiod och ko.

Tabell 7. Betydelsen av foderstat, laktationsstadium, försöksperiod och individ (ko) för variationen i andelen koppar utsöndrad i mjölk, träck respektive urin

Parameter	Minskning av residualvariansen <sup>1</sup> (%)		
	Andel koppar utsöndrad i:		
	Mjölk	Träck	Urin
Foderstat	36,4	38,8	5,0
Laktationsstadium	45,7	4,2	37,5
Försöksperiod	75,6	44,3	35,4
Ko	51,8	20,0	32,5

<sup>1</sup>Minskning i residualvariens (MSE) uträknad enligt:  $[(MSE_{(reducerad\ modell)} - MSE_{(full\ modell)})] / MSE_{(reducerad\ modell)} \times 100$ . Reducerad modell innebär att en parameter i taget har uteslutits från den statistiska modellen.

## Diskussion

### Effekt av den individuella kon

Resultaten från föreliggande studie påvisade skillnader mellan försökskorna avseende andel utsöndrad koppar via mjölken (Tabell 4). Signifikanta skillnader iaktogs mellan i stort sett samtliga kor i försöket, vilket indikerar en genetisk påverkan (se Tabell 5 & 7). Detta stöds också av att genetiskt betingade defekter har konstaterats i kopparmetabolismen hos en rad andra djurslag som exempelvis hundraserna Bedlington terrier och dalmatiner samt råttor av typen Long Evans Cinnamon och ”toxic-milk”-möss.

Koncentrationen av koppar i mjölk, korrigerat för intaget, utgör intuitivt det bästa måttet på en kos förmåga att producera mjölk som har låg benägenhet att oxidera. Ett

enskilt värde på koncentrationen av koppar i mjölk visade emellertid i detta försök ett svagt samband med motsvarande dagsintag av koppar, vilket visas av att differensen mellan intag och utsöndring i vissa fall var negativ (se Tabell 3). Detta beror förmodligen på att koppar tillfälligt lagras i levern, en mekanism som sannolikt utvecklats som en anpassning till variationer i kopparintaget (Underwood & Suttle, 1999). Idealt vore att regelbundet registrera kopparintag via foder respektive utsöndring av koppar i mjölk under en längre period. I avsaknad av dylika data torde andel koppar utsöndrad i mjölk vid ett enskilt tillfälle utgöra ett tillfredställande mått på kons benägenhet att utsöndra koppar företrädesvis via mjölken.

### **Effekt av försöksperiod**

Andelen koppar utsöndrad i mjölken påverkades dessutom av försöksperiod, dvs. när på året halten mättes. Att försöksperiod förklarade en stor del av variationen beror troligen på att många andra variationsorsaker inkluderas i den parametern, exempelvis provtagningsrutiner samt teknisk personal. Allteftersom laktationen fortskred ökade andelen koppar som utsöndrades via mjölken (Tabell 5), vilket överensstämmer med tidigare gjorda iakttagelser (Lundén et al., 2007, manuskript).

### **Effekt av foderstat**

Andelen utsöndrad koppar i mjölken var störst när korna utfodrades med foderstaten E30. Innehållet av koppar i denna foderstat var dock något lägre än i E50, en foderstat som var associerad med en betydligt lägre andel koppar i mjölken. Kopparhalten i fodret verkar följaktligen inte ha någon större inverkan på kopparutsöndringen i mjölken. Denna iakttagelse stöds av Miller (1975) som visade att kopparnivån i mjölken inte har någon tydlig koppling till kopparintaget. Innehållet av koppar i mjölk styrs snarare av processer i juvret än av kopparintaget via fodret. Även vid ett mycket högt intag ökar kopparhalten bara till en viss gräns, den tycks nå en plåtå. Juvervävnaden utgör en barriär mellan blodet och mjölken som förhindrar extremt höga halter koppar i mjölken.

Huvuddelen av kopparn i fodret passerar, som nämnts tidigare, rakt igenom djuret för att utsöndras via träcken. Utfodringen spelar därför en viktig roll när det gäller hur mycket koppar som sprids på åkrarna via gödseln och överskott av koppar i foderstaten riskerar följaktligen att bidra till markkontamineringen av tungmetaller (Gustafson et al., 2007). Om fodrets innehåll av kopparantagonister kan begränsas, borde utnyttjandet av befintlig koppar i fodret kunna förbättras och markkontamineringen minska.

Rekommendationerna avseende mängderna koppar och antagonisterna järn och svavel i fodret bör förslagsvis avse balansen mellan koppar och dess antagonister, istället för som nu behandla varje ämne för sig. Vad gäller järn och svavel finns idag bara en rekommenderad lägsta nivå medan övre gräns saknas. Detta innebär att en foderstat teoretiskt sett kan innehålla tillräckligt med koppar som dock är otillgänglig för djuret på grund av höga halter av kopparantagonister.

### **Effekt av kopparantagonister i fodret**

I foderstaterna H50 och E50 ingick rapskaka, till skillnad från de två foderstaterna med 30 % grovfoder. Rapskaka innehåller relativt höga halter av kopparantagonisterna svavel och järn, medan halten av koppar är ganska låg. En hög andel av kopparantagonister i fodret kan vara en bidragande orsak till att andelen koppar utsöndrad i träck var högre vid utfodring av foderstaterna H50 och E50. Antagonister binder koppar som därmed blir otillgänglig för djuret vilket leder till en ökad andel koppar som passerar rakt igenom djuret. Kombinationen rapskaka och hög andel ensilage, vilka båda innehåller relativt mycket järn, i foderstaten E50 kan vara en förklaring till att andelen koppar utsöndrad i träck var högst vid den foderstaten (Tabell 5).

Foderstaten E30 resulterade i högre andel utsöndrad koppar i mjölken jämfört med foderstaterna H50 och E50, vilket skulle kunna vara en direkt effekt av skillnader i foderstaternas innehåll av koppar. Den högre kopparhalten i mjölken skulle även kunna vara en indirekt följd av låga halter av antagonisterna molybden, svavel och järn i fodret. En minskning av andelen koppar utsöndrad i träck leder per automatik till en motsvarande ökning av andelarna som utsöndrades via mjölk och urin. Foderstaten E30 innehöll visserligen mer koppar, molybden och järn än foderstat H50, men mindre än E50, medan halterna av svavel var högre i E30 än både H50 och E50 (Tabell 5). Följaktligen kan inte den högre kopparhalten i mjölken vid utfodring av foderstaten E30 enbart förklaras av fodrets innehåll av koppar och dess antagonister.

### **Effekt av mineralfodergiva**

Trots att fodret anses ha liten betydelse för kopparhalten i mjölken, så förklarade foderstaten i det här försöket ändå en betydande andel av variationen. Detta skulle kunna ha ett samband med under vilken försöksperiod foderstaten utfodrades. Alla foderstater förekommer under alla försöksperioder, men under försöksperiod 4 innehöll mineralfodret cirka 25 % mer koppar än tidigare försöksperioder. Samtliga försöksperioder skiljer sig dock signifikant från varandra när det gäller andelen koppar som utsöndrats i mjölken.

Eftersom regleringen av närings- och spårämnen, däribland salivens buffringskapacitet, svett, tillväxt, lagring och upptag från skelett och lever, är komplex är en exakt balans mellan intag och utsöndring inte att förvänta (Gustafson, 2000).

Eftersom det endast togs stickprov på träcken, kan det ha lett till över- eller underskattning av innehållet av koppar i träck. Det i sin tur påverkar resultaten av beräknade andelar utsöndrade i träck, mjölk respektive urin.



## **Slutsats**

Försöket visade att det fanns signifikanta skillnader mellan de olika korna avseende hur stor andel av den totala andelen koppar som utsöndrades via mjölken, jämfört med andelarna utsöndrade via träck och urin. Detta indikerar att det finns individuella skillnader i kopparmetabolism, vilket kan ha en delvis genetisk bakgrund, något som stöds av att genetiskt betingade defekter har konstaterats i kopparmetabolismen hos en rad andra djurslag.

Resultaten från föreliggande studie indikerar att det genom avelsåtgärder skulle vara möjligt att minska förekomsten av koppar i mjölk genom att bedriva urval för kor som företrädesvis utsöndrar intaget koppar via träck och urin. Härigenom skulle man sannolikt minska förekomsten av mjölk med oxidationssmak och därmed uppnå en förbättrad lagringsstabilitet hos våra mejeriprodukter.

## Referenser

- Ammerman, C. B. 1970. Recent developments in cobalt and copper in ruminant nutrition: a review. *J Dairy Sci* 53(8):1097-1107
- Auza, N. J., Olson, W. G., Murphy, M. J. & Linn, J. G. 1999. Diagnosis and treatment of copper toxicosis in ruminants. *JAVMA* 214(11):1624-28
- Bailey, J. D., Ansotegui R. P., Paterson J. A., Swenson C. K. & Johnson A. B. 2001. Effects of supplementing combinations of inorganic and complexed copper on performance and liver mineral status of beef heifers consuming antagonists. *J Anim Sci* 79(11):2926-34
- Barrefors, P., Granelli, K., Appelqvist, L.-A. & Björck, L. 1995. Chemical Characterization of Raw Milk Samples with and Without Oxidative Off-Flavor. *J Dairy Sci* 78:2691-2699
- Bævre, L., Haug, I., Ouren, E. & Ulberg, O. 2000. Lukt- og smaksfeil i leverandørmelk. *TINE Norske Meierier BA, Oslo*
- Chase, C. R., Beede, D. K., Van Horn, H. H., Shearer, J. K. & Donovan, G. A. 2000. Responses of lactating dairy cows to copper source, supplementation rate, and dietary antagonist (iron). *J Dairy Sci* 83:1845-1852
- Danks, D. M. 1988. Copper deficiency in humans. *Ann Rev Nutr.* 8:235-57
- Davis, G. K., Mertz, W. 1987. Copper. I: Mertz, W. (Red.) *Trace elements in human and animal nutrition.* 301-364. San Diego, Kalifornien: Academic Press, Inc.
- Du, Z., Hemken, R. W. & Harmon, R. J. 1996. Copper Metabolism of Holstein and Jersey Cows and Heifers Fed Diets High in Cupric Sulfate or Copper Proteinate. *J Dairy Sci* 79:1873-1880
- Everitt, B. 1993a. Oxidationsfel – orsak och erfarenheter. *Utfodringskonferensen 1993*
- Everitt, B. 1993b. Smakfel i leverantörmjölken – utveckling, bedömning och regelverk. *Utfodringskonferensen 1993*
- Fuentealba, C. I., Aburto, E. M. 2003. Review: Animal models of copper-associated liver disease. *Comparative Hepatology* 2:5
- Granelli, K., Barrefors, P., Björck, L. & Appelqvist, L.-A. 1998. Further studies on lipid composition of bovine milk in relation to spontaneous oxidized flavor. *J Sci Food Agric* 77:161-171
- Gustafson, G. M. 2000. Partitioning of nutrient and trace elements in feed among milk, faeces and urine by lactating dairy cows. *Acta Agric Scand, sektion A, Anim Sci* 50:111-120

- Gustafson, G. M., Salomon, E. & Jonsson, S. 2007. Barn balance calculations of Ca, Cu, K, Mg, Mn, N, P, S and Zn in a conventional and organic farm in Sweden. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 119:160-170
- Havemose, M. S., Weisbjerg, M. R., Bredie, W. L. P., Poulsen, H. D. & Nielsen, J. H. 2006. Oxidative Stability of Milk Influenced by Fatty Acids, Antioxidants, and Copper Derived from Feed. *J. Dairy Sci* 89:1970–1980
- Humphries, W. R., Phillippo, M., Young, B. W. & Bremner, I. 1983. The influence of dietary iron and molybdenum on copper metabolism in calves. *Br J Nutr* 49:77-86
- Jensen, R. G., Ferris, A. M. & Lammi-Keefe, C. J. 1991. The Composition of Milk Fat. *J Dairy Sci* 74:3228-3243
- Jones, B. 1989. Design and analysis of cross-over trials (Monographs on statistics and applied probability, 34). 4. London: Chapman and Hall.
- Kincaid, R. L. 1999. Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. *Proceedings of the American Society of Animal Science*
- Lindberg, E., Andersson, I., Lundén, A., Holm Nielsen, J., Everitt, B., Bertilsson, J. & Gustafsson, A. H. 2004. Orsaker till avvikande lukt och smak i leverantörmjolk. Rapport 7028-P. Svensk Mjolk Forskning
- Littlelike, E. T., Wittam, T. E. & Jenkins, T. G. 1995. Effect of breed, intake and carcass composition on the status of several macro and trace minerals of adult beef cattle. *J Anim Sci* 73:2113-2119
- Lundén, A., Näslund, J., Ördé-Öström, I-L. & Barrefors, P. 2007. Genetic and environmental factors relating to copper in cow's milk and incidence of spontaneous oxidized flavour. Manuskript
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D. & Morgan, C. A. 2002. *Animal Nutrition*. 129, 131. Harlow: Prentice Hall
- Miller, W. J. 1975. New concepts and developments in metabolism and homeostasis of inorganic elements in dairy cattle. *J Dairy Sci* 58: 1549- 1560
- Morales, M. S., Palmquist, D. L. & Weiss, W. P. 2000. Effects of fat source and copper on unsaturation of blood and triacylglycerol fatty acids in Holstein and Jersey cows. *J Dairy Sci* 83:2105-2111
- Nicholson, J. W. G. 1993. Spontaneous oxidized flavour in cows' milk. *Bulletin of the IDF* 281:2-12
- Noaker, L. J., Washabau, R. J., Detrisac, C. J., Heldmann, E. & Hendrick, M. J. 1999. Copper associated acute hepatic failure in a dog. *JAVMA* 214:1502-1506
- Rung Klint, G. 2006. Dagisbarn fick förgiftat vatten. *Nya Wermlands Tidningen*, s 6 2006-11-02

- van de Sluis, B., Rothuizen, J., Pearson, P. L., van Oost, B. A. & Wijmenga, C. 2002. Identification of a new copper metabolism gene by positional cloning in a purebred dog population. *Hum Mol Genet* 11(2):165-173
- Shim, H., Harris, Z. L. 2003. Genetic defects in copper metabolism. Regulation of intracellular trace element metabolism. *J Nutr* 133:1527S-1531S
- Smart, M. E., Christensen, D. A. 1985. The effect of cow's dietary intake, sire breed, age on her copper status and that of her fetus in the first ninety days of gestation. *Can J Comp Med* 49:156-158
- Spears, J. W. 2003. Trace mineral bioavailability in ruminants. *J Nutr* 133:1506S-1509S
- Spörndly, R. (red.). 2003. Fodertabeller för idisslare. Sveriges lantbruksuniversitet, institutionen för husdjurens utfodring och vård. Rapport 257. Uppsala.
- Theophilos, M. B., Cox, D. W. & Mercer, J. F. B. 1996. The toxic milk mouse is a murine model of Wilson Disease. *Hum Mol Genet* 5:1619-1624
- Timmons, J. S., Weiss, W. P., Palmquist, D. L. & Harper, W. J. 2001. Relationships among dietary roasted soybeans, milk components, and spontaneous oxidized flavor of milk. *J Dairy Sci* 84:2440-2449
- Turnlund, J. R. 1998. Human whole-body copper metabolism. *Am J Clin Nutr* 67(suppl):960S-964S
- Uauy, R., Olivares, M. & Gonzalez, M. 1998. Essentiality of copper in humans. *Am J Clin Nutr* 67(suppl):952S-959S
- Underwood, E. J., Suttle, N. F. 1999. The mineral nutrition of livestock. 292, 296. Wallingford, Storbritannien: CABI publishing
- Urbach, G. 1990. Effect of feed on flavor in dairy foods. *J Dairy Sci* 73:3639-3650
- Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, A. & van Boekel, M. A. J. S. 1999. Dairy technology – Principles of milk properties and processes. 40-41. Basel, Schweiz: Marcel Dekker, AG
- Wooten, L., Shulze, R. A., Lancey, R. W., Lietzow, M., Linder, M. C. 1996. Ceruloplasmin is found in milk and amniotic fluid and may have a nutritional role. *Nutritional Biochemistry* 7:632-639
- Xin, Z., Waterman, D. F., Hemken, R. W., Harmon, R. J. 1993. Copper status and requirement during the dry period and early lactation in multiparous Holstein cows. *J Dairy Sci* 76:2711-2716