



Mjölkningsfrekvensens påverkan på mjölkproteinets sammansättning och kvalitet

The effect of milking frequency on milk protein
composition and quality

by

Annica Edvardsson

**Institutionen för husdjurens
utfodring och vård**

Examensarbete 231

**Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Animal Nutrition and Management**

Uppsala 2006



Mjölkningsfrekvensens påverkan på mjölkproteinets sammansättning och kvalitet

The effect of milking frequency on milk protein
composition and quality

by

Annica Edvardsson

Handledare: Kerstin Svennersten-Sjaunja

**Institutionen för husdjurens
utfodring och vård**

Examensarbete 231

**Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Animal Nutrition and Management**

Uppsala 2006

Innehållsförteckning

Abstract	2
Sammanfattning	3
Inledning.....	4
Litteraturstudie	4
Juveranatomi	4
Mjölkbildning: mjölkens innehåll av olika komponenter	5
Laktos	6
Fett.....	7
Protein	8
Enzym.....	9
Kaseinets betydelse för osttillverkning	10
Natrium och Kalium.....	10
Mjölkningsfrekvensens inverkan på mjölkproteinet	11
Egen undersökning	12
Material och metoder	12
Försöksupplägg	12
Djurmaterial	13
Inhysning och utfodring	13
Mjölkningsrutiner under försöket.....	13
Provtagning och registrering	14
Analysmetoder	15
Statistisk analys	15
Resultat.....	15
Juverhälsa	15
Mjölmängd, fett och laktos.....	16
Mjölkens proteininnehåll.....	17
Plasminogen, plasmin och proteolys	19
Natrium, kalium och urea.....	21
Diskussion	22
Konklusioner	24
Tack.....	25
Referenslista	26

Abstract

In modern dairy production the milking frequency is increased in some herds due to introducing of automatic milking systems or the farmers decision to milk high producing dairy cows more than two times a day. With more frequent milkings the milk yield increases while the content of fat and protein decreases. However, how the composition of protein is influenced is not fully evaluated. The purpose of this study was therefore to see if a higher milking frequency had any impact on the milk production and especially on the protein composition.

This study was conducted as a half udder experiment. One side of the udder was milked two times and the other side was milked four times. The study was divided into two periods with five days in each. The first period both sides were milked two times and the second period one half of the udder was milked two times and the other was milked four times.

There was a higher yield in the udder half milked four times in period two. For the milk components fat and lactose there were no significant effect due to treatment in period two. Protein yield in fresh milk increased but protein concentration decreased, in the side milked four times, compared to the side milked two times. The casein concentration had a significant lower value for the evening milking in both periods. For whey samples, the value was significantly lower in the evening milking in period one. In period two the values were significantly lower in both morning and evening milking on the side that was milked four times a day. Plasminogen showed only significant lower value on morning milking on the side milked four times in period two. The values for plasmin activity was significant lower at both morning and evening milking, for the side milked four times in period two. The change in proteolysis was not significant for the side milked four times in the second period. The value for sodium on the more frequent milked side in period two was significantly lower. For potassium, the values in period two was significantly higher for the more frequent milked side. The urea content in the milk was not significantly affected by the treatment in period two.

In conclusion minor effects on protein content due to frequent milking were observed, while plasmin activity decreased. Further studies needed to evaluate if these findings are of importance in a long term perspective.

Sammanfattning

I modern mjölkproduktion ses en ökad mjölkningssfrekvens i vissa besättningar till följd av introduktion av automatiska mjölkningssystem eller att lantbrukaren har bestämt sig för att mjölka de högvakastande korna mer än två gånger per dag. Med en högre mjölkningssfrekvens ökar mjölmängden medan innehållet av fett och protein minskar. Men hur sammansättningen av protein påverkas är ännu inte fullt utrett. Syftet med studien var att se hur den ökade mjölkningssfrekvensen påverkade mjölkproduktionen och speciellt proteinets sammansättning.

Den här studien utfördes som ett halvjuverförsök uppdelat i två perioder. Båda perioderna bestod av fem dagar, i den första perioden mjölkades båda juverhalvorna två gånger per dygn och i den andra perioden mjölkades ena sidan två gånger och den andra sidan fyra gånger per dygn.

Mjölmängden ökade under period två i den mer frekvent mjölkade juverhalvan. Fett- och laktoskoncentrationen påverkades inte av den ökade frekvensen i period två. I de färska mjölkproverna sågs en ökad mängd och en minskad halt av protein i period två. Kasein visade ett signifikant lägre värde vid kvällsmjölknigen i båda perioderna. Halten av vassle i de färska och lagrade proverna var signifikant lägre redan i period ett vid kvällsmjölknigen och i period två var det lägre värden vid båda mjölkningstillfällena, för den juverhalva som mjölkades fyra gånger per dag. För plasminogen var aktiviteten endast signifikant lägre vid morgonmjölknigen i period två, för den juverhalva som mjölkades fyra gånger per dag. Plasminaktiviteten i period två var signifikant lägre vid båda mjölkningstillfällena på den juverhalva som mjölkades fyra gånger per dag. Proteolysen visade ingen signifikant förändring i någon av perioderna. Mängden natrium minskade och mängden kalium ökade signifikant av den ökade mjölkningssfrekvensen av den ena juverhalvan i period två. Urea påverkades inte av behandlingen med ökad mjölkningssfrekvens.

Sammanfattningsvis ser vi mindre effekter på proteininnehållet till följd av mer frekvent mjölkning, medan plasminaktiviteten minskade. Vidare studier behövs för att utreda om dessa resultat är viktiga i ett långtidsperspektiv.

Inledning

I dagens lantbrukssamhälle blir det mer och mer vanligt att installera automatiska mjölkningssystem (AM). I ett konventionellt system mjölkas korna i regel två gånger per dygn medan i AM-system mjölkas korna 2,5 till 3 gånger per dygn. Intervallet mellan mjölkningarna i ett AM-system är varierande, men målet är att få mjölkningarna jämnt fördelade över hela dygnet. Även i en del besättningar utan AM-system har man valt att mjölka mer än två gånger per dygn. Av flera studier framgår det att mjölmängden ökar med ökad mjölkningsfrekvens medan halterna minskar. Dock ökar den totala mängden av fett och protein. En fördel med ökad mjölkningsfrekvens är att för de högvastande korna minskar juvertrycket och därmed belastningen på juvret.

En nackdel med stor mjölmängd i juvret kan vara att juvrets tight junctions, dvs. de element som håller samman epitelcellerna i alveolen, börjar läcka på grund av högt juvertryck som följd av långa mjölkningsintervall. Om det blir läckage i tight junctions finns risk för att proteinerna i mjölken påverkas negativt genom att enzymer, såsom plasminogen, från blodet kommer in i mjölken. För plasmin (aktiv form) och plasminogen (inaktiv form) är miljön i juvret optimal på grund av temperaturen. Vid kortare mjölkningsintervall borde plasmin få kortare tid på sig att agera mot proteinet i mjölken och bryta ner detta. Korta mjölkningsintervall borde därför leda till bättre proteinkvalitet.

En viktig faktor för osttillverkning är mängden kasein i mjölken. Faktorer som kan påverka kaseinmängden negativt är, bland annat, ökad aktivitet av enzymet plasmin, som kan bryta ner vissa av kaseinkomponenterna. Genom att minska mjölkningsintervallet minskas tiden för plasmin att bryta ner kasein, vilket borde optimera kvaliteten på kaseinet och därmed öka utbytet av ost.

Syftet med studien var därför att undersöka hur en ökad mjölkningsfrekvens påverkar framför allt mjölkproteinet och dess sammansättning.

Litteraturstudie

Juveranatomi

Kons juver består av fyra separata körtlar med varsin spene. De enskilda körtlarna har inget utbyte av mjölkkomponenter med varandra. Mellan främre och bakre juverhalvorna finns ingen distinkt avdelning utan endast ett fint membran. Mellan vänster och höger halva finns kraftiga ligament, som även hjälper till att hålla upp juvret. Det finns också ligament som går på utsidan av juvret och dessa ligament är mindre elastiska än de som finns mellan juverhalvorna (Tanhuanpää, 1995).

Juverkörteln består av sekretorisk vävnad och bindväv (Tanhuanpää, 1995). Den sekretoriska vävnaden är organiserad i lobber och varje lobe är uppbyggd av mindre beståndsdelar och de minsta kallas alveoler. Alveolernas struktur kan liknas vid blåsor. Inne i alveolens lumen finns ett enkelt lager av sekretoriska epitelceller varifrån mjölken bildas och utsöndras. Alveolerna i sin tur är omgivna av kontraktile myoepitelceller (Hurley, 2005).

När hormonet oxytocin utsöndras och transporteras via blodet till juvret, i samband med att mjölknedsläppningsreflexen aktiveras, kontraheras myoepitelcellerna. Mjölken kramas då ut ur alveollumen och transporteras via gångar ner till juvercisternen. I juvercisternen sker ingen syntes av mjölk utan i cisternen lagras mjölken (Hurley, 2005), se bild 1.

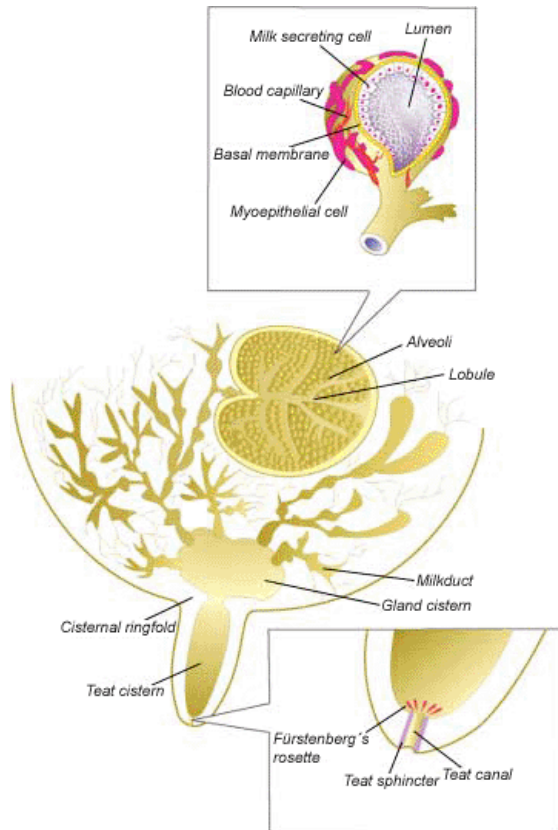


Bild 1. Juvrets uppbyggnad (Delaval, 2005)

(Källa: http://www.delaval.com/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.htm)

Mjölkbildning: mjölkens innehåll av olika komponenter

Vätskefasen i mjölken och dess beståndsdelar bildas av juvrets sekretoriska epitelceller. Alla byggstenar för mjölksyntesen finns i blodet och det krävs att 400-500 liter blod passerar juvret för att producera en liter mjölk (Hurley, 2005), se bild 2.

Mjölken kan indelas i plasma och serum. Plasman är vätska inklusive fett medan serum är vätska med kaseinmiceller exklusive fett (Walstra, 1999). Avkomman använder mjölkkomponenterna fett och laktos som energi, medan protein används främst till vävnadstillväxt. De salter som finns i mjölken används till utveckling av benvävnad och intra- och extracellulär vätska (Kaartinen, 1995).

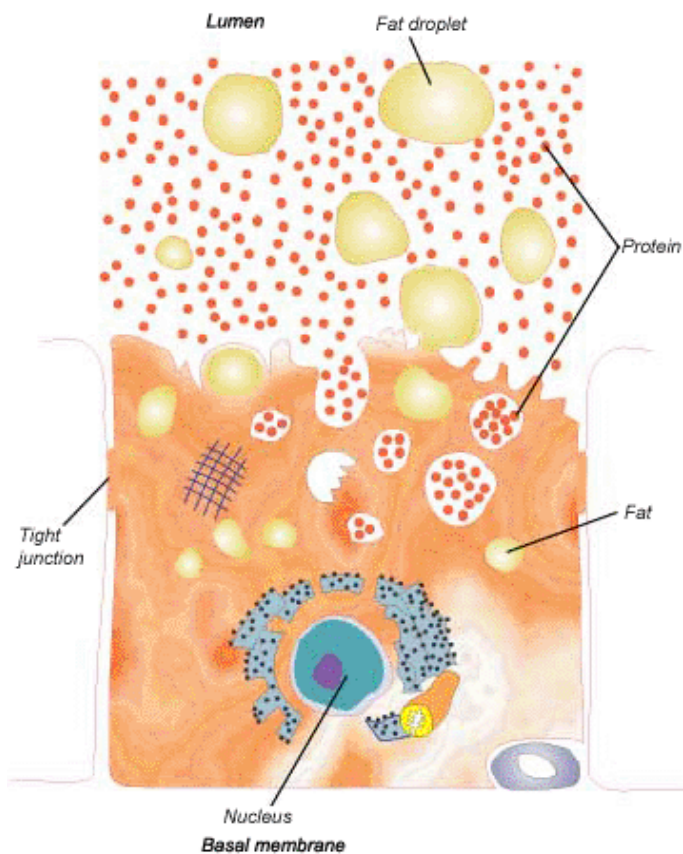


Bild 2. Hur juvercellen bildar fett och protein (Delaval, 2005)
 (Källa: http://www.delaval.com/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.htm)

Laktos

Glukos är essentiell för mjölksyntesen och kan inte ersättas med annat socker. När glukos upptagits i juvercellen utnyttjas den på olika sätt, se bild 3. Glukos används i huvudsak för syntes av glycerol (triglyceriden i mjölk) och för laktosyntes. Laktos är en disackarid som bildas från en galaktos- och en glukosmolekyl (Hurley, 2005) och är ett unikt socker för mjölk (Walstra, 1999). Syntesen är envägs, vilket innebär att laktos inte kan hydrolyseras tillbaka till glukos och galaktos (Hurley, 2005). Komjök innehåller mellan 3,5-5,5 % laktos (Mantere-Alhonen, 1995). Koncentrationen av laktos är relativt stabil och i ett friskt juver är dag-till-dag variationen av laktos låg (Svennersten-Sjaunja *et al.* 1997). Laktos är en ickepermeabel disackarid och den fungerar som en osmotisk regulator och är den största osmolen i mjölk (Hurley, 2005). Om kon skulle bli uttorkad kan vatten gå tillbaka över epitelmembranet (Kaartinen, 1995).

α -laktalbumin är ett vassleprotein som är nödvändigt för laktosyntesen och finns bara i juvret. Aktiviteten är strikt reglerat av hormoner så att laktosyntesen bara sker under laktationen (Hurley, 2005).

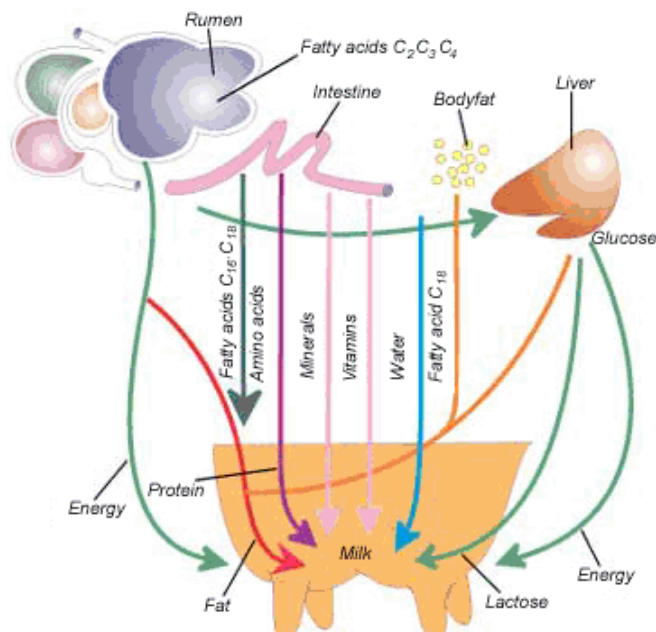


Bild 3. Upptag av olika komponenter till mjölkbildning (Delaval, 2005)
 (Källa: http://www.delaval.com/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.htm)

Fett

Fermentation av kolhydrater från fodret sker i vommen och resulterar i bildningen av de flyktiga fettsyror acetat (65 %), propionat (20 %) och butyrat (10 %), se bild 3. Acetat används av idisslare direkt till fettsyntes i juvret (Kaartinen, 1995).

Mjölkfett består till 98 % av triglycerider och deras fettsyramönster har stor variation (Walstra, 1999). Triglyceriderna består av tre fettsyror kovalent bundna till en glycerolmolekyl med esterbindningar. Av de fettsyror som återfinns i mjölken kommer 40-60 % från blodet. Resten syntetiseras i juvret (Hurley, 2005). Syntes av korta och medellånga fettsyror i juvervävnaden sker enligt *de novo* syntes, det vill säga syntes av fettsyror från föregångare absorberade från blodet. Denna syntes sker i cytoplasman i juvrets epitelceller och kräver en källa av korta kolkedjor (acetyl-CoA) och reducerande ekvivalenter. Hos idisslare är denna källa acetat och β -hydroxybutyrat (BHBA) och den reducerande ekvivalenten kommer från NADPH₂ (Hurley, 2005). Typiskt för komjolk är att fettet består av en relativt hög halt av kortkedjiga fettsyror med 4- 10 kolatomer. Av de långkedjiga fettsyrorerna är oljesyra den mest förekommande av de mättade fettsyrorerna (Walstra, 1999).

Fettet i mjölken förekommer i form av fettkolor, som primärt består av en fettkula med triglycerider omgiven av ett lipidmembran. Membranet hjälper till att stabilisera fettkulorna i vattenomgivningen och att förhindra gräddsättning. Vid ovarsam hantering av mjölken kan fettkulmembranet skadas varvid fettet blir åtkomligt för enzymet lipas. Lipas "klipper" av fettsyrorerna från glycerolen vilket medför att mjölken kommer att innehålla fria fettsyror. För höga halter av fria fettsyror i mjölken kan bland annat förorsaka smakfel på mjölken. Fria fettsyror finns i färsk mjölk och ökar genom lipolys. I mjölkplasman finns de huvudsakligen i joniserad form och dessa är mer lösliga i vatten än den rena fettsyran är, dock kan kortkedjiga fettsyror vara ganska lösliga i vatten (Walstra, 1999).

Protein

Mjölksproteinerna bildas av aminosyror som tas upp från blodet (Walstra, 1999), se bild 3.

Koncentrationen av protein i komjölk beror främst på ras och laktationsstadium.

Laktationsnummer har visats ha stor betydelse för proteinmängden. Klei *et al.* (1997) kom fram till att kor med laktationsnummer två har högre procenthalt råprotein än de som har laktationsnummer ett. Andra faktorer som kan påverka proteinmängd och koncentration i mjölk är fodret. Murphy & O'Mara (1993) konstaterade att en ökning av andelen koncentrat i foderstaten ökade både koncentration och mängd av protein i mjölken. Vanligen ligger proteininnehållet mellan 31,8 g/kg mjölk (Holstein) och 40,3 g/kg mjölk (Jersey) (Murphy & O'Mara, 1993).

Huvuddelen, ca 80 % (Kaartinen, 1995), av proteinerna är kaseiner. Kasein finns i mjölk i form av aggregat, så kallade kaseinmiceller. Det har indikerats att laktationsnummer kan ha betydelse för kaseininnehållet i mjölken. Klei *et al.* (1997) fann att kor med laktationsnummer två hade högre procenthalt kasein än de med laktationsnummer ett och över tre, anledningen kunde inte fastställas i försöket. I försöket kom man fram till att kaseinprocenten minskade generellt med laktationsnummer och minskade från tidig till sen laktation för kor med laktationsnummer två och över tre. Tre underklasser av kasein finns, alfa-s-kaseiner, beta-kaseiner och kappa-kaseiner. α_{s1} -kasein utgör den största delen av kaseinerna därefter kommer β -kasein (Walstra, 1999), se tabell 1. γ -kasein är en degraderingsprodukt av β -kasein. Klyvningen av β -kasein utförs av enzymet plasmin och de avklyvda delarna består mest av proteos-pepton. Mängden γ -kasein varierar och beror på ålder och lagringstemperatur på mjölken. κ -kasein skiljer sig från resten av kaseinerna genom sin kemiska struktur (Walstra, 1999) och är den kaseinmolekyl som har störst betydelse för osttillverkning (Mantere-Alhonen, 1995).

Tabell 1. Kaseinvarianter, procentandel av total mängd protein (Mantere-Alhonen, 1995)

Kaseinvariant				
α_{s1} -kasein	α_{s2} -kasein	β -kasein	γ -kasein	κ -kasein
39-46	8-11	25-35	8-28	0-20

Den andra proteingruppen är vassleproteiner, som i huvudsak består av alfa-laktalbumin och beta-laktalbumin. α -laktalbumin spelar stor roll i laktosyntesen, har en central roll i mjölksyntesen som helhet och utgör 25 % av den totala mängden vassleprotein i mjölk. I vassleproteiner ingår också enzymer, tillväxtfaktorer, hormoner, immunosubstanser och näringstransportörer (Hurley, 2005).

De stora proteinerna i mjölk; kaseiner, β -laktoglobulin och α -laktalbumin, bildas endast i juvret av juvervävnadens celler. Mindre proteiner transporteras med blodet, som immunoglobuliner och serum albuminer. En liten andel av immunoglobulinerna bildas i juvervävnadens lymfocyter och dessa upprätthåller den lokala immunitet som finns i juvret (Hurley, 2005).

Enzym

Mjölk innehåller en hel del enzymer. En del av dem utsöndras från juverkörteln, till exempel katalas, medan andra har mikrobiellt ursprung. Juverkörtelns enzymer finns spridda i vätskan och flertalet av dem är associerade med fettkulemembranet. Andra enzym som finns i mjölkserumet är delvis associerade med kaseinmicellen. Enzymer som har betydelse för mjölkens kvalitetsegenskaper är plasmin och lipas. Plasminogen produceras inte i juvret utan kommer in från blodet i sin inaktiva form och omvandlas till plasmin inne i juvret. Plasmin bryter ner mjölkproteinerna. Lipas påverkar triglyceriden så att fria fettsyror bildas. Plasmin och lipoproteinlipas är inte speciellt aktiva i färsk mjölk men kan skada mjölken under lagring.

Enzymet plasminogen är till stor del associerat med kaseinmicellen. Enligt Politis *et al.* (1992) finns 82 % av det totala plasminogenet i kaseinfraktionen medan 18 % finns i serumfraktionen. Rollema *et al.* (1983) fick i sin studie fram att i skummjölk är 93 % av plasminet associerat till kaseinmicellen och för plasminogen är andelen 70 %. Benfeldt *et al.* (1995) isolerade plasmin och plasminogen i mjölk och fick fram att i skummjölk finns 1,5 µg/mL immunoreaktivt plasminogen och i mjölkserum uppskattas värdet till 0,3 µg/mL.

Plasminogens aktivitet är varierande eftersom förhållandet plasmin-plasminogen varierar. Det finns flera promotorer som katalyserar hydrolysen av plasminogen till plasmin (Walstra, 1999). Plasminaktiviteten ökar om kon har ett förhöjt celltal (Walstra, 1999; Hurley, 2005; Politis *et al.*, 1989). Vid mastit, förhöjt celltal, blir permeabiliteten i juvret större och plasmin och plasminogen kan lättare ta sig in i juvervävnaden från blodet (Politis *et al.*, 1989; Politis & Kwai Hang, 1989). Politis & Kwai Hang (1989) fann ett samband mellan förhöjt celltal och ökad plasminaktivitet. Vid celltal mellan 290 000 och 1300 000/ml ökade plasminets aktivitet gradvis. Under tidig laktation är halterna av plasmin, plasminogen och dess aktiverare låga men ökar med laktationen och halterna är som högst vid sinläggning. Att halterna är högst under sinperioden beror på att det finns en ökad permeabilitet i blod-mjölkbarrären och att enzymerna lättare kan passera från blod till mjölk (Hurley, 2005; Politis *et al.*, 1989). Klei *et al.* (1997) fann att plasminaktiviteten påverkades även den av laktationsnummer oberoende av laktationsperiod, kor med laktationsnummer tre och över hade högre plasminaktivitet än de med lägre laktationsnummer. Andra orsaker som gör att plasmin ökar sin aktivitet är kons ålder och ökat laktationsnummer (Hurley, 2005; Politis *et al.*, 1989; Politis & Kwai Hang, 1989).

Att plasmin kan påverka mjölkens kaseininnehåll har visats i tidigare studier. Politis & Kwai Hang (1989) fann signifikanta negativa korrelationer mellan mängden α_s -kasein och β -kasein och plasmin. Liknande korrelationer mellan mängden α_s -kasein och β -kasein och celltal framkom i försöket, vilket delvis skulle kunna bero på att plasminaktiviteten ökar med ökat celltal. Mellan pH och plasminaktivitet upptäcktes en positiv signifikant korrelation, ett högre pH kan därmed öka proteolysen och därmed omvandlingen av plasminogen till plasmin (Politis & Kwai Hang, 1989).

Larsen *et al.* (2004) fann ett samband mellan höga celltal och proteinets degradering. Den höga proteolytiska nedbrytningen kunde bero på att infekterade juverfjärdedelar har högre nivå av proteinasaktivitet. I försöket tillsattes urokinas till mjölk från både infekterade och ej infekterade juverdelar. Urokinas är en aktiverare för plasminogen och klyver en enkelbindning i plasminogen för att få fram den aktiva proteasen plasmin (Alberts *et al.* 1994). Nivån av fria aminoterminaler ökade både i mjölk från infekterade som i mjölk från ej

infekterade juverdelar, vilket visar att det finns aktiverbart plasminogen även i juverdelar som inte har förhöjda celltal. I försöket tillsattes även aprotinin för att förhindra proteolysen orsakad av plasmin. När detta inte inträffade kunde de konstatera att det finns andra proteaser än plasmin, till exempel celltalsproteaser, som under lagring av mjölk utför proteolysen (Larsen *et al.*, 2004).

Kaseinets betydelse för osttillverkning

Mängden ost som kan erhållas ur mjölken beror på hur stora mängder det finns av fett, protein och annan torrsubstans (van Boekel, 1993). I den färdiga osten finns inte kasein utan parakasein, som är strukturelementet i ost tillverkad med löpe. Fettet finns utspritt i parakaseinmassan (van den Berg, 1993).

Mängden ost som kan erhållas från mjölken beror delvis av kornas genetiska uppsättning. Genetiska variationer på κ -Cn genen och β -Lg genen påverkar proteininnehållet i mjölken. Det är främst κ -Cn genen som påverkar innehållet. Om mjölk från kor med genen κ -Cn B processas för osttillverkning ger det en större mängd ost. Detta beror främst på att mjölken har högre proteininnehåll (Puhan & Jakob, 1993).

Ostutbytet beror också till stor del av kaseininnehållet. Ju lägre det är desto mindre ost blir det. Ökad mjölmängd, plasminaktivitet och avel är faktorer som kan minska kaseininnehållet i mjölken (Lindmark-Månsson *et al.*, 2003).

Sapru *et al.* (1997) kontrollerade hur mjölkkningsfrekvens och laktationsstadium påverkade mjölkens egenskaper inför osttillverkning. De fann vissa skillnader i koncentrationen av fett och kasein mellan mjölkning tre eller två gånger per dag. Ostens sammansättning, i form av saltinnehåll och vattenhalt, påverkades inte av att korna mjölkades mer frekvent utan i det hänseendet hade laktationsstadium en större inverkan. Deras resultat visade att ju längre in i laktationen korna kom, desto mer ökade halten av fett, protein och kasein i mjölken. Vid senare laktationsstadium ökade mängden ost på grund av att totalmängden fett plus proteininnehållet också ökade (Sapru *et al.*, 1997).

Natrium och Kalium

Natrium, kalium och klorid är joner som absorberas från fodret. Alla vätskor i kroppen ska hållas elektriskt neutrala och natrium, kalium och klorid påverkar både syra-basstatusen i kroppen och även den elektriska balansen (Sanchez & Beede, 1994). Natrium och kalium är essentiella macromineraler. Totala mineralinnehållet i mjölken är ca 7,3 g/l, för kalium är mängden 530 mg/l och för natrium 1360 mg/l. Natrium är den primära regulatören i den extracellulära vätskan och har en viktig roll bland annat för syra-basbalansen och den aktiva transporten över cellmembranet. Kalium agerar mer i den intracellulära vätskan (Flynn & Cashman, 1997).

Mjölkningsfrekvensens inverkan på mjölkproteinet

Ett flertal mjölkningsförsök med ökad mjölkningsfrekvens har genomförts, främst med avseende på hur fetthalten och fettsammansättningen förändras. Det finns inte så många försök där mjölkproteinet kommit i fokus. En ökad mjölkningsfrekvens kan påverka proteinets sammansättning, genom att mjölken lagras kortare tid i juvret och då har plasmin kortare tid på sig att bryta ner proteinet. Vid ökad mjölkningsfrekvens påverkas även tight junctions som då inte utsätts för så kraftig spänning vilket medför att läckage mellan blod och mjölk blir mindre.

Vid ökad mjölkningsfrekvens påverkas mjölkens sammansättning. Klei *et al.* (1997) utförde ett försök med mjölkning tre gånger per dag. De hade som hypotes att ju kortare tid mjölken lagrades i juvret desto kortare tid har plasmin på sig att bryta ner kasein vid 38,5°C, därmed skulle mjölkens kvalitet förbättras. Av studien framgick det att den grupp kor som mjölkades tre gånger per dag hade 10,4 % högre mjölmängd än de som mjölkades två gånger om dagen, även mängden mjölkfett hade ökat. Proteinmängden var också högst för de kor som mjölkades tre gånger per dag. Mjölkningsfrekvensen påverkade procenthalten råprotein och kasein under alla laktationsperioder och halterna var lägre för de kor som mjölkades tre gånger än de som mjölkades två gånger. För kasein var effekten bara signifikant i tidig laktation, medan under resten av laktationen var kasein som en procentsats av råprotein signifikant högre för kor mjölkade tre gånger än för dem som mjölkades två gånger. Vid kontroll av plasminaktiviteten märktes ingen effekt av ökad mjölkningsfrekvens under någon av perioderna (Klei *et al.*, 1997).

Sorensen *et al.* (2000) utförde ett halvjuverförsök där den ena halvan mjölkades två gånger och den andra halvan mjölkades tre gånger per dag. I studien undersöktes om ökad mjölkningsfrekvens orsakade att tight junctions blev tätare och att mjölkprotein kvaliteten därmed ökade. Koncentrationen av natrium och kalium mättes för att avgöra om tight junctions läckte eller inte. Korna mjölkades två gånger per dag från kalvning och 9 veckor framåt. Därefter ökades mjölkningen till tre gånger per dag på ena juverhalvan med 8 timmars intervall mellan mjölkningarna, den andra halvan fortsatte att mjölkas två gånger per dag med 8:16 timmars intervall. Av resultaten framgick att mjölkning tre gånger per dag förhindrar att protein kvaliteten på mjölken försämras mot slutet av laktationsperioden, vilket kan vara ett problem vid mjölkning två gånger per dag. Forskarna ansåg att effekten beror delvis på att mjölken exponeras för proteolytiska enzym under kortare tid vid mjölkning tre gånger per dag. En annan anledning kunde vara att tight junctions i juvret underhålls på ett bättre sätt under laktationens gång vid mer frekvent mjölkning och att proteolytiska enzymer på så sätt förhindras att läcka från blod till mjölk (Sorensen *et al.*, 2000).

Enligt resultaten i Sorensen *et al.* (2000) undersökning minskade kaliumkoncentrationen medan natriumkoncentrationen ökade under laktationen. Vid mjölkning tre gånger per dag var natrium lägre och kalium högre än vid mjölkning två gånger per dag. Halterna av kasein, som en fraktion av totalt protein, var signifikant högre i mjölken från juverhalvan som mjölkades tre gånger per dag än hos juverhalvan som mjölkades två gånger. Halterna av totalt protein och kaseinprotein följde ett liknande mönster men med mindre, ej signifikanta, skillnader. Vid mjölkning två gånger per dag var aktiviteten av plasmin och plasminogen högre än vid mjölkning tre gånger per dag. Genom att öka mjölkningsfrekvensen ökar man också mjölmängden och för att övriga ämnen i mjölken ska bibehålla sin koncentration måste de också öka sina mängder. I avseendet med aktivitet av plasmin och plasminogen tror Sorensen

et al. (2000) i motsats till Klei *et al.* (1997) att enbart lagringstid inte kan förklara hur stor proteolysen av kasein blir. Vid mjölkning två gånger per dag anser Sorensen *et al.* (2000) att epitelet i juvret har visst inflytande på den proteolytiska aktiviteten i mjölken. Tight junctions ska förhindra att serumkomponenter kan ta sig från blod till mjölk, men en del av dessa läcker. Normalt ska koncentrationen av natrium vara högre i blodet än i mjölken till följd av natriumpumparnas arbete och vid kontroll var proportionerna av natrium och kalium i mjölken högre vid mjölkning två gånger per dag, vilket betyder att tight junctions läcker natrium från blod till mjölk. Laktos, som är en osmotisk komponent i mjölk, avgör genom sin koncentration mjölkvolymen. I nyutsöndrad mjölk från alveolerna varierar inte laktoskoncentrationerna men efter en tids lagring i juvret minskar koncentrationen vilket tyder på att laktos läcker motsatt håll mot proteiner, det vill säga ut i blodet. Detta gäller främst juver som mjölkas två gånger per dag där lagringstiden av mjölken i juvret blir längre (Sorensen *et al.*, 2000).

Lacy-Hulbert *et al.* (1999) utförde ett kombinerat mjölkknings- och foderförsök där en grupp mjölkades en gång per dygn och den andra två gånger per dygn. Natriumkoncentrationen var högre och kaliumkoncentrationen lägre vid mjölkning en gång per dag. Plasmalaktoshalten mättes som en indikator på hur permeabla tight junctions är och laktoshalten i plasma var betydligt högre från kor som mjölkades en gång per dygn. När tight junctions läcker flödar en stor andel substanser både från blod till mjölk och från mjölk till blod (Lacy-Hulbert *et al.* 1999).

Egen undersökning

Syftet med studien var att se hur en ökad mjölkkningsfrekvens påverkar mjölmängd och mjölkproteinets kvalitet och sammansättning. Hypotesen var att en ökad mjölkkningsfrekvens ger en ökad mjölmängd samt att mängden protein ökar och halten av protein minskar. Studien genomfördes som ett halvjuverförsök.

Material och metoder

Försöket utfördes på Kungsängens Forskningscentrum, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. Försöket började 20041208 och avslutades 20041217.

Försöksupplägg

Försöket bestod av två perioder där varje period varade i fem dagar. Försöket föregicks av en två dagar lång inväjningsperiod till 12-timmars mjölkkningsintervall. Mellan perioderna var det två vilodagar då inga tester utfördes för att minimera eftereffekter. Försöket genomfördes som ett halvjuverförsök. Första perioden mjölkades korna två gånger per dygn klockan 06.00 och 18.00. Andra perioden mjölkades korna fyra gånger per dygn klockan 06.00, 12.00, 18.00 och 24.00 på ena juverhalvan medan motstående juverhalva mjölkades klockan 06.00 och 18.00. Fyra kor mjölkades på höger juverhalva och sju kor mjölkades på vänster juverhalva.

Djurmaterial

I studien ingick 11 stycken kor av rasen Svensk Röd och vit Boskap (SRB). Avkastning, mjölksammansättning, juverhälsa, laktationsstadium och laktationsnummer vid försökets start, samt till vilken selektionslinje korna hör visas i tabell 2. Besättningen på Kungsängen är uppdelad i två selektionslinjer, där den ena linjen avlas för låg fetthalt (L) i mjölken och den andra för hög fetthalt (H) (Åkerlind *et al.* 1999).

Tabell 2. Information om korna före försökets start, mjölkavkastning, fett-, protein- och laktoshalt (%), cellhalt i mjölken (SCC) för morgon- och kvällsmjölkning, laktationsvecka (laktv.), laktationsnummer (laktnr.) samt selektionslinje

konr	mjölmängd, kg ECM mo/kv		fett % mo/kv		protein % mo/kv		laktos % mo/kv		SCC 1000/ml mjölk mo	SCC 1000/ml mjölk kv	lakt. v.	lakt. nr.	selekt ions- linje ¹
988	24,0	15,2	2,15	5,59	2,95	3,16	4,94	4,72	12	20	8	3	L
891	24,0	12,6	2,92	6,25	2,87	2,93	4,84	4,66	7	1785*	21	4	L
936	19,6	11,8	3,49	6,04	3,32	3,81	4,94	4,65	40	78	23	3	L
864	17,0	8,4	4,67	7,50	3,68	3,99	4,38	4,27	54	87	37	4	H
897	21,2	15,4	2,73	6,91	3,00	3,25	4,92	4,63	15	35	21	4	L
927	12,6	6,8	4,82	7,48	3,78	4,12	4,67	4,56	52	87	51	3	H
1020	16,0	9,7	4,30	6,68	3,56	3,75	4,39	4,41	34	48	50	2	H
1043	14,8	9,6	3,86	6,01	3,57	3,66	4,70	4,59	26	51	30	2	L
871	11,2	7,2	4,07	6,04	4,02	4,09	4,73	4,63	82	170	34	4	H
848	14,2	9,0	4,51	7,60	4,10	4,31	4,97	4,80	7	12	41	4	H
1129	17,2	9,6	2,99	5,54	3,11	3,66	4,79	4,46	22	29	39	1	L

* provet var gryngigt, troligen ett analysfel

¹ L = selektionslinje för låg mjölkfetthalt

H = selektionslinje för hög mjölkfetthalt

Inhysning och utfodring

Korna var inhysta i ett uppbundet stall med kortbås. Korna utfodrades klockan 06.00, 09.00, 13.00 och 17.00. Foderstaten bestod av ensilage och kraftfoder samt 1kg hö. Hö utfodrades en gång om dagen, ensilage utfodrades *ad lib* och kraftfoder enligt mjölmängd (Spörndly, 2003).

Mjölkningsrutiner under försöket

Förstimuleringen, som varade 30-60 sekunder, bestod av avtorkning av spenarna med fuktig tvättduk och kontrollmjölkning före påsättningen av spenkopporna. Spenarna sprayades med desinfektionslösning efter avslutad mjölkning. Båspallen ströddes med rikligt med

strömmaterial för att undvika nedsmutsning av spenarna och därmed minimera risken för infektioner.

Mjölkningsmaskinen var specialkonstruerad för att kunna samla mjölk från varje enskild juverdel. Den bestod av två cylindrar som var delad i två delar, se bild 4. Mjölkningsen genomfördes efter monovacprincipen, systemvacuum var 42 kPa, pulseringshastigheten 60 cykler/min och pulseringsförhållandet 35:65.

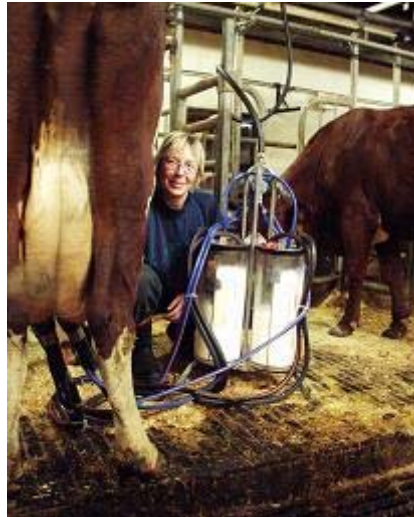


Bild 4. Specialbyggd mjölkningsmaskinen som möjliggör registrering och provtagning från varje juverfjärdedel separat

Provtagning och registrering

Mjölken från respektive juverhalva vägdes och registrerades vid varje mjölkning. Före provtagning omrördes mjölken noggrant.

Första perioden togs mjölkprov dag 1, 3 och 5, klockan 06.00 och 18.00, för analys av fett, protein och laktos. Dag 3 och dag 5, klockan 06.00 och 18.00, togs dessutom prov för analys av kasein, vassle, plasminaktivitet, natrium, kalium och urea. Dubbelprov togs ut för analys av kasein, där det ena provet analyserades på färsk mjölk och det andra provet analyserades på mjölk som kyllagrats i 24 timmar.

Andra perioden registrerades mjölmängden alla mjölkningstillfällen dag 1, 3 och 5 och mjölkprov togs ut för analys av fett, protein och laktos. I övrigt togs mjölkprover ut som under period 1.

Dag 1, 8 och 12 togs celltalsprover på samtliga kor på varje juverfjärdedel efter avslutad mjölkning vid morgonmjölkningen.

Mjölkprov för bestämning av plasminaktivitet och proteolys skickades till institutet för jordbruksforskning, Foulum i Danmark. Mjölkprov för analys av natrium och kalium frysförvarades tills analys, som genomfördes vid institutionen för Djurfysiologi, SLU. Övriga analyser genomfördes vid Kungsängens forskningscentrum.

Analysmetoder

Fett, protein, laktos, vassle och urea analyserades med mid infraröd fotospektroskopi (MilkoScan FT 120 FOSS electric Danmark). Celltalet analyserades med elektronisk flouoscensbaserad cellräkning (Fossomatic 5000, FOSS Electric, Danmark).

Kaseinet utfälldes med kalciumklorid och löpe enligt Arla Foods analysföreskrifter kapitel 30-6 utgåva 004, 001210.

Plasminaktiviteten bestämdes i enlighet efter en modifierad metod beskriven av Rollema *et al.* (1983) där hastigheten på hydrolysen av det kromtillsatta substratet S-2403 (pyroGlu-Phe-Lys-pNA.HCl) mäts. Absorbansen mättes spektrofotometriskt (Bio-tek Instrument, Winooske, VT 05404, USA) . Ändring i absorbans (dA_{405}/dt) användes som ett mått på plasminaktivitet. Graden av proteolys analyserades enligt Fluorescamine metoden enligt Wiking *et al.* (2002). Material som använts för plasminaktivitetsbestämning och för mätning av graden av proteolys, samt utförlig beskrivning av genomförandet finns i Wiking & Nielsen (2004).

Natrium och kalium analyserades enligt flamfotometri-metoden med instrumentet Flame Photometer FF-IL 943 (Instrumentation Laboratory S.p.A., Milano, Italien).

Statistisk analys

Data analyserades statistiskt med parad T-test i statistikprogrammet SAS. Under period ett antogs det inte vara någon skillnad mellan juverhalvorna, som då mjölkades två gånger per dag, medan det under period två förväntades bli en skillnad mellan juverhalvorna till följd av mer frekvent mjölkning av den ena juverhalvan.

Resultat

Juverhälsa

För att försäkra oss om att alla korna hade en god juverhälsa togs celltalsprov vid tre tillfällen under försöket, första dagen i period 1 (1), mellan perioderna (2) och sista dagen i period 2 (3). Celltalsproven togs efter avslutad mjölkning vid alla tre tillfällena. Värdena presenteras per juverfjärdedel på varje ko, se tabell 3.

Tabell 3. Celltal (celler x 1000/ml mjölk), för olika juverdelar vid de tre provtillfällena.

konr	hf ¹ (1) ²	hb (1)	vb (1)	vf (1)	hf (2)	hb (2)	vb (2)	vf (2)	hf (3)	hb (3)	vb (3)	vf (3)
988	33	18	94	34	15	9	34	13	34	12	18	11
891	41	35	42	38	28	35	28	30	31	29	26	44
936	137	120	43	348	192	104	34	257	121	83	15	166
864	275	374	168	335	325	294	106	103	129	189	61	85
897	74	224	72	64	68	109	128	62	50	55	39	42

927	85	57	75	193	505	569	377	502	521	380	330	531
1020	219	53	48	190	162	98	59	96	119	70	42	57
1043	212	474	162	417	57	67	58	113	47	85	51	127
871	198	182	128	202	130	114	71	96	71	103	54	58
848	57	37	39	30	44	17	24	32	42	29	30	33
1129	56	46	46	56	78	31	37	43	53	48	28	31

¹ hf = höger fram, hb = höger bak, vf = vänster fram, vb = vänster bak

² provtagningstillfällen: 1 = första dagen i period 1, 2 = mellan perioderna, 3 = sista dagen i period 2

Mjölmängd, fett och laktos

Mjölmängden var inte signifikant skild mellan de båda juverhalvorna under period ett. Skillnaden var mindre än 1 %. Mjölmängden ökade däremot statistiskt signifikant under period två i den juverhalvan som mjölkades fyra gånger per dygn, se tabell 4. Den juverhalva som mjölkats 4 ggr per dygn producerade 4,4 % mer mjölk än den som mjölkades 2 ggr.

Tabell 4. Mjölmängd (kg/d) i juverhalvorna som mjölkats två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Mjölmängd, kg/d	14,32±4,35	14,20±3,95	0,11±0,84	ns
morgon	7,53±2,41	7,34±2,26	0,18±0,50	ns
lunch	-	-	-	-
kväll	6,79±2,06	6,86±1,84	-0,07±0,47	ns
natt	-	-	-	-
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Mjölmängd, kg/d	14,77±5,26	15,42±4,76	0,65±1,43	<0,05
morgon	7,55±2,38	5,57±1,23	1,99±1,30	<0,001
lunch	-	2,85±1,18		
kväll	7,21±3,02	4,68±1,22	2,53±1,85	<0,001
natt	-	2,50±1,44		

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Inga signifikanta skillnader i fetthalt kunde urskiljas mellan juverhalvorna varken i period ett, när båda juverhalvorna mjölkades två gånger per dygn, eller två, när ena juverhalvan mjölkades fyra gånger per dygn, se tabell 5. Trots att korna mjölkades med 12 timmars mjölkningsintervall var fetthalten högre vid kvällsmjölknigen än vid morgonmjölknigen under båda perioderna.

Tabell 5. Fetthalt (%) i juverhalvorna som mjölkats två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Fett, % per dygn	4,56±0,67	4,57±0,58	-0,002±0,17	ns
morgon	4,32±0,71	4,30±0,64	0,02±0,15	ns
lunch	-	-	-	-
kväll	4,83±0,68	4,85±0,63	-0,02±0,25	ns
natt	-	-	-	-
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Fett, % per dygn	4,71±0,70	4,59±0,68	0,12±0,28	ns
morgon	4,56±0,84	4,51±0,88	0,05±0,24	ns
lunch	-	4,49±0,80		
kväll	4,84±0,74	4,85±0,82	-0,01±0,43	ns
natt	-	4,25±0,83		

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Laktoshalten var inte signifikant avvikande mellan juverhalvorna varken i period ett, när båda juverhalvorna mjölkades två gånger per dag, eller två, när ena juverhalvan mjölkades fyra gånger per dag, se tabell 6. Det var inte heller någon större skillnad i laktos mellan de olika mjölkningstillfällena.

Tabell 6. Laktoshalt (%) i juverhalvorna som mjölkats två och fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Laktos, % per dygn	4,51±0,21	4,52±0,18	-0,01±0,04	ns
morgon	4,52±0,22	4,54±0,19	-0,01±0,05	ns
lunch	-	-	-	-
kväll	4,49±0,21	4,50±0,18	-0,001±0,05	ns
natt	-	-	-	-
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Laktos, % per dygn	4,47±0,21	4,49±0,18	-0,02±0,05	ns
morgon	4,49±0,23	4,52±0,20	-0,03±0,06	ns
lunch	-	4,50±0,18		
kväll	4,45±0,19	4,47±0,18	-0,02±0,05	ns
natt	-	4,45±0,20		

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Mjölakens proteininnehåll

Skillnaden i proteinmängd mellan juverhalvorna var inte signifikant i första perioden. I period två framkom en signifikant skillnad, en minskning, vid morgon- och kvällsmjölkningen på den mer frekvent mjölkade juverhalvan. Totalt sett var det dock ingen signifikant skillnad mellan juverhalvorna under period två, se tabell 7.

Tabell 7. Proteinmängd (g/kg mjölk), i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Proteinmängd, g/kg	0,51±0,10	0,50±0,08	0,01±0,03	ns
morgon	0,26±0,05	0,26±0,05	0,006±0,02	ns
lunch	-	-	-	-
kväll	0,25±0,05	0,25±0,04	-0,002±0,02	ns
natt	-	-	-	-
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Proteinmängd, g/kg	0,51±0,13	0,53±0,10	-0,02±0,05	ns
morgon	0,25±0,06	0,19±0,03	0,06±0,04	<0,001
lunch	-	0,10±0,04		
kväll	0,25±0,08	0,17±0,03	0,08±0,06	<0,001
natt	-	0,08±0,04		

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Proteinhalten i morgon- och dygnsmjölk (färsk mjölk) under period ett var inte signifikant skilda mellan juverhalvorna. Däremot fanns en tendens (p=0,07) till skillnad vid kvällsmjölknningen. Under period två minskade halten signifikant både totalt och per mjölkningstillfälle, se tabell 8.

Tabell 8. Proteinhalt (%), i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Protein, % per dygn	3,70±0,58	3,69±0,56	0,008±0,04	ns
morgon	3,59±0,60	3,59±0,58	0,003±0,04	ns
lunch	-	-	-	-
kväll	3,82±0,57	3,81±0,55	-0,02±0,03	<0,10
natt	-	-	-	-
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Protein, % per dygn	3,56±0,58	3,53±0,55	0,03±0,04	<0,05
morgon	3,49±0,58	3,47±0,58	0,02±0,04	<0,10
lunch	-	3,62±0,54		
kväll	3,64±0,58	3,61±0,56	0,03±0,06	<0,10
natt	-	3,44±0,52		

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Halten av kasein skiljde sig inte signifikant under första perioden och ej heller under andra perioden, se tabell 9.

Tabell 9. Kaseinhalt (%), i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Kasein, %				
morgon	2,74±0,48	2,74±0,48	-0,001±0,03	ns
kväll	2,90±0,47	2,89±0,45	0,01±0,02	ns
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Kasein, %				
morgon	2,65±0,47	2,65±0,48	0,006±0,04	ns
kväll	2,75±0,48	2,74±0,47	0,015±0,04	ns

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

För vassle fanns en signifikant skillnad mellan juverhalvorna i period ett, vid kvällsmjölknigen. Under period två minskade vasslehalten signifikant, både vid morgon- och kvällsmjölknigen, se tabell 10.

Tabell 10. Vasslehalt (%), i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Vassle, %				
morgon	0,90±0,15	0,90±0,14	0,0036±0,02	ns
kväll	0,97±0,14	0,96±0,13	0,01±0,01	<0,05
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Vassle, %				
morgon	0,88±0,14	0,86±0,13	0,018±0,02	<0,05
kväll	0,93±0,14	0,92±0,13	0,014±0,03	<0,05

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Plasminogen, plasmin och proteolys

Plasminogen mäts som en aktivitet i mjölken, en förändring av dA405/min/ml skummad mjölk. I period ett fanns inga signifikanta skillnader i aktivitet. Under period två var det endast skillnad, genom en minskad aktivitet, vid morgonmjölknigen, se tabell 11.

Tabell 11. Aktiviteten, som en förändring av dA405/min/ml skummad mjölk, av plasminogen i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Plasminogen				
morgon	106,9±28,9	103,5±20,2	3,4±25,4	ns
kväll	125,6±66,9	129,0±62,7	-3,5±18,8	ns
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Plasminogen				
morgon	98,9±36,3	83,2±25,7	15,8±15,9	<0,01
kväll	84,0±38,0	80,4±38,1	3,7±27,8	ns

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Plasmin mäts i samma enhet som plasminogen. Under period ett fanns inga signifikanta skillnader mellan juverhalvorna. I period två var det signifikanta skillnader mellan juverhalvorna, genom en minskad aktivitet, vid både morgon- och kvällsmjölknigen, se tabell 12.

Tabell 12. Aktiviteten, som en förändring av dA405/min/ml skummad mjölk, av plasmin i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Plasmin				
morgon	102,4±41,9	94,8±31,7	7,5±17,7	ns
kväll	104,3±45,3	103,7±37,1	0,6±14,4	ns
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Plasmin				
morgon	103,2±34,3	82,4±28,3	20,8±12,3	<0,001
kväll	113,0±39,5	90,9±33,0	22,1±14,6	<0,001

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Summan av aktiviteten av plasminogen och plasmin visade inga signifikanta skillnader i period ett. I period två fanns signifikant skillnad, genom en minskning, vid både morgon- och kvällsmjölknigen, se tabell 13.

Tabell 13. Summan av aktivitet av plasminogen och plasmin i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Summan				
morgon	209,2±59,7	198,3±43,3	10,9±31,7	ns
kväll	229,9±67,9	232,7±66,1	-2,8±20,6	ns
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Summan				
morgon	202,2±44,4	165,6±35,3	36,6±16,1	<0,001
kväll	197,0±51,5	171,3±56,2	25,7±32,1	<0,05

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Proteolys innebär nedbrytning av mjölkproteiner. Under period ett fanns inte några signifikanta skillnader mellan juverhalvorna. Inte heller under period två, när ena juverhalvan mjölkades fyra gånger per dag, fanns en tendens, p=0,10, till signifikant skillnad mellan juverhalvorna, se tabell 14.

Tabell 14. Proteolys, nedbrytning av mjölkproteiner, i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Proteolys				
morgon	2,16±0,26	2,27±0,30	-0,10±0,28	ns
kväll	2,20±0,48	2,31±0,41	-0,11±0,32	ns
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Proteolys				
morgon	2,42±0,49	2,58±0,48	-0,16±0,30	0,10
kväll	2,64±0,42	2,69±0,36	-0,06±0,22	ns

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Natrium, kalium och urea

I period ett fanns inga signifikanta skillnader mellan juverhalvorna med avseende på natriummängden i mjölken. I period två var det en signifikant sänkning av mängden vid både morgon- och kvällsmjölknigen, se tabell 15.

Tabell 15. Mängden natrium (mmol/l mjölk) i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Natrium, mmol/l				
morgon	16,60±2,85	16,35±2,31	0,26±1,18	ns
kväll	16,03±2,70	15,74±2,19	0,29±0,93	ns
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Natrium, mmol/l				
morgon	15,13±2,63	14,14±1,88	0,99±1,31	<0,05
kväll	14,83±2,92	13,81±2,00	1,02±1,39	<0,05

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

För mängden kalium fanns det inga signifikanta skillnader under period ett. Under period två hade kaliummängden i mjölken ökat signifikant vid både morgon- och kvällsmjölknigen, se tabell 16.

Tabell 16. Mängden kalium (mmol/l mjölk) i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Kalium, mmol/l				
morgon	41,48±4,30	41,45±4,00	0,04±1,00	ns
kväll	41,65±3,83	41,71±3,75	-0,06±0,78	ns
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Kalium, mmol/l				
morgon	41,76±3,84	42,49±3,62	-0,73±0,96	<0,05
kväll	42,45±3,72	43,35±3,80	-0,90±0,70	<0,01

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

För urea fanns inga signifikanta skillnader varken under period ett eller två, se tabell 17.

Tabell 17. Urea (%) i juverhalvorna som mjölkades två eller fyra gånger per dag, medelvärde, standardavvikelse, differens mellan juverhalvorna samt signifikansnivå (n=11)

	Mjölkningsfrekvens			
Period 1	2 gånger	2 gånger*	differens	sign. nivå
Urea, %				
morgon	0,052±0,005	0,052±0,005	0,0003±0,002	ns
kväll	0,055±0,004	0,055±0,004	0,32 ⁻⁶ ±0,002	ns
Period 2	2 gånger	4 gånger*	differens	sign. nivå
Urea, %				
morgon	0,049±0,0059	0,049±0,0064	15 ⁻⁵ ±0,002	ns
kväll	0,052±0,004	0,052±0,005	31 ⁻⁷ ±0,002	ns

* juverhalva som mjölkas två gånger under period 1 och fyra gånger under period 2

Diskussion

De celltalsprov som togs under försöket visar att alla kor har en bra juverhälsa och ingen av korna hade anmärkningsvärt höga celltal. Enligt Östensson *et al.* (1988) anses celltal under 100 000 celler/ml representera ett friskt juver och i spannet mellan 25 000 och 570 000 celler/ml är det svårt att diagnostisera mastit och i vårt försök ligger alla kor under det högsta värdet. Celltalsproverna togs i stripmjölken efter avslutad morgonmjölkning. Stripmjölken har alltid högre celltal än samlingsmjölken (Östensson *et al.*, 1988). Vid jämförelse mellan provtagningstillfällena kan en sänkning av antalet celler noteras i varje juverfjärdedel hos de flesta av korna ju längre försöket pågick. Detta överensstämmer med tidigare studier där mjölkningsfrekvensen ökat (Dahl *et al.*, 2004; van der Iest & Hillerton, 1989).

För såväl mjölmängd som mjölksammansättning var det ingen skillnad i avkastning mellan juverhalvorna i period ett då båda juverhalvorna mjölkades två gånger per dag. När mjölkningsfrekvensen ökade från två till fyra gånger per dag påverkades produktionen i den juverhalva som mjölkades mer frekvent. Den totala mjölmängden per dygn ökade signifikant i den juverhalva som mjölkades fyra gånger per dag, vilket överensstämmer med resultaten som Klei *et al.* (1997) och Morag (1973) fick fram. Morag (1973) utförde ett halvjuverförsök, där båda juverhalvorna mjölkades först två gånger per dag och sedan mjölkades ena juverhalvan tre gånger per dag, och kom då fram till att det är lokala faktorer inom juvret som styr mjölkproduktionen vid olika mjölkningsfrekvenser. Stelwagen *et al.* (1994^a) såg i sin studie att vid minskad mjölkningsfrekvens minskar även mjölmängden. Van Der Iest & Hillerton (1989) utförde ett korttidsförsök på 48 h där korna mjölkades var fjärde timme. De kunde se en ökning av mjölmängden med 10,4 %. Samma resultat fick Hillerton *et al.* (1990) i sin studie där höger bakjuver och vänster framjuver mjölkades fyra gånger per dag och resterande juverdelar mjölkades två gånger per dag. Hillertons försök pågick under längre tid men han kunde se en ökning redan under de första 48 h. I försöket framgick även att mjölmängden endast ökade i de juverdelar som mjölkats mer frekvent. Anledningen till att det blir en ökad mjölmängd vid en ökad mjölkningsfrekvens är att juvret töms oftare och detta stimulerar till en ökad produktion.

Erdman & Varner (1995), O'Brien *et al.* (2001), Sapru *et al.* (1997) och Klei *et al.* (1997) kom fram till att koncentrationen av fett och protein minskar med ökad mjölkningsfrekvens. Enligt Erdman & Varner (1995) är en minskning av fett- och proteinkoncentrationen förväntad eftersom koncentrationen av fett och protein normalt är lägre när mjölmängden

ökar. I vårt försök minskade proteinkoncentrationen signifikant, dock var förändringen mycket liten, medan fettkoncentrationen inte påverkades. Stelwagen *et al.* (1994^a) ändrade mjölkningens frekvensen från mjölkning två gånger om dagen till en gång och fick en ökning i procenten protein. Dessa resultat kan jämföras med denna studies resultat då vi ökade frekvensen och fick en minskning av procenten protein. Klungel *et al.* (2000) utförde en jämförande studie mellan AM-system och konventionellt system där mjölkningens frekvensen ökade från två till tre gånger per dag. Studien visade att vid ökad mjölkningens frekvens, både i konventionellt system och AM-system, så minskar halten av protein i mjölken, vilket även vår studie visar. Patton *et al.* (2006) utförde försök med mjölkning en gång per dag jämfört med tre gånger per dag, i försöket inkluderades även fodrets energiinnehåll. Resultaten visade på en minskad koncentration av fett och protein vid högre mjölkningens frekvens och fodret hade ingen inverkan på vare sig fett eller protein. Sapru *et al.* (1997) såg även att koncentrationen av kasein sänktes, vilket även vi såg i vårt försök, där kaseinhalten sänktes om än inte signifikant. Den totala proteinmängden ökade i vårt försök, dock ej signifikant, vilket är i likhet med vad Klei *et al.* (1997), Hale *et al.* (2003) och Erdman & Varner (1995) fick fram i sina försök. Hale *et al.* (2003) såg en ökning av proteinmängden vid en ökning av mjölkningens frekvensen från två gånger per dag till fyra gånger per dag, men upptäckte att trots den ökade mjölkningens frekvensen så minskade proteinmängden med ökad laktationsvecka. I vårt försök var korna i varierande laktationsvecka och eftersom vi tog fram ett medelvärde på alla kor så kan spannet på laktationsveckorna ha inverkat på resultatet. Hale *et al.* (2003) såg även att urea inte påverkades av den ökade mjölkningens frekvensen och det såg även vi i vårt försök.

Mängden natrium har minskat och mängden kalium har ökat i den mer frekvent mjölkade juverhalvan i vårt försök. De resultaten stämmer väl överens med resultaten som Sorensen *et al.* (2001) fick i ett delförsök i sin studie. En del av försöket var upplagt som en kortsiktig ökning av mjölkningens frekvensen och då minskade mängden natrium och ökade mängden kalium vid ökad mjölkningens frekvens (Sorensen *et al.*, 2001). Stelwagen *et al.* (1998) minskade mjölkningens frekvensen från två gånger per dag till en gång per dag och mätte laktosmängden i plasma som en indikator på hur väl tight junctions hölls samman. Vid den minskade mjölkningens frekvensen ökade laktosmängden i plasma snabbt men blev inte signifikanta förrän vid 17 h ansamling av mjölk i juvret, då läckte tight junctions konsekvent. Delamaire & Guinard-Flament (2006) utförde ett försök med fyra olika mjölkningsintervall, 8, 12, 16 och 24 timmars intervall. Mängden natrium i mjölken minskade upp till 16 h mjölkningsintervall men ökade igen vid 24 h intervall. Det är ytterligare ett bevis på att runt 17 h håller tight junctions tätt och sedan börjar de läcka. Laktosmängden i plasma ökade ju längre mjölkningsintervallen blev vilket bevisar att tight junctions inte håller tätt (Delamaire & Guinard-Flament, 2006). Mängden natrium och kalium i mjölken indikerar hur väl tight junctions fungerar och om det finns ett läckage mellan blod och mjölk. Normalt sätt ska natriummängden vara lägre i mjölk än i plasma och om man ser en förhöjning av natriummängden i mjölken så läcker det in natrium från blodet. I vårt försök hade natriummängden minskat i mjölken från den mer frekvent mjölkade juverhalvan. Den ökade mjölkningens frekvensen bidrog med all säkerhet till resultatet på grund av att ett kortare mjölkningsintervall gör att ansamlingen av mjölk i juvret aldrig blir så stor och därmed minskar belastningen på tight junctions.

Plasminogen hade en signifikant minskad aktivitet vid morgonmjölkningen, men inte vid kvällsmjölkningen, i den mer frekvent mjölkade juverhalvan under period två. Resultaten överensstämmer med vad Kelly *et al.* (1998) fick fram i sitt försök. Även Stelwagen *et al.* (1994^b) såg en minskad aktivitet av både plasminogen och plasmin vid en ökad

mjölkningsfrekvens. Plasminaktiviteten i vårt försök har minskat signifikant i period två i den juverhalva som mjölkades fyra gånger per dag. För både plasmin och plasminogen har en minskning skett i hela juvret vilket gör att kvällsmjölknningen i period två för plasminogen inte blir signifikant. Summan av plasmin-plasminogen har i vårt försök minskat signifikant under period två vilket Kelly *et al.* (1998) också kom fram till i sitt försök. Man kan också studera förhållandet mellan plasmin-plasminogen vilket är en indikation på hur stor omvandlingen av plasminogen (inaktivt plasmin) är till plasmin (Stelwagen^a *et al.*, 1994). Politis & Kwai Hang (1989) såg ett samband mellan kasein och plasmin och även mellan pH och plasmin. Mellan kasein och plasmin sågs en negativ korrelation och mellan pH och plasmin sågs en positiv korrelation. Korrelationen mellan kasein och plasmin i vårt försök kan inte uteslutas, men vi har inte fått fram signifikanta förändringar för kasein utan bara en signifikant sänkning för plasmin. I Politis & Kwai Hang (1989) studie kunde ett samband mellan celltal och plasminaktivitet ses, när celltalet ökade så ökade även plasminaktiviteten. Stelwagen *et al.* (1994^a) såg en ökning av aktiviteten av både plasminogen och plasmin vid en minskad mjölkningsfrekvens, från två till en gång per dag. Den ökade aktiviteten förklarades med att tight junctions i juvret läcker vid längre mjölkningsintervall så att plasminogen från blodet kommer in i mjölken. Den ökade aktiviteten av plasmin förklaras med en ökad omvandling av plasminogen till plasmin. Resultaten i vårt försök kan enbart ses som positiva eftersom vid en ökad mjölkningsfrekvens, och därmed kortare lagringstid i juvret, så minskade aktiviteten av plasminogen signifikant vilket betyder att en mindre andel mjölkproteiner degraderas.

För proteolysen framkom en tendens till signifikant skillnad mellan juverhalvorna vid morgonmjölknningen i period två. En faktor som kan påverka proteolysen är höga celltal. Larsen *et al.* (2004) och Politis & Kwai Hang (1989) såg i sina försök att höga celltal påverkade degraderingen av proteiner. Larsen *et al.* (2004) kom fram till att det finns en stor reservoar av aktiverbart plasminogen även i juverdelar utan förhöjda celltal. I vårt försök sågs en ökning av proteolys vid ökad mjölkningsfrekvens, om än bara vid morgonmjölknningen i period två. Alla kor i vårt försök ansågs ha en god juverhälsa och det har troligen haft en inverkan på resultatet, eftersom vi inte fick någon signifikant skillnad av proteolysen mellan juverhalvorna vid ökad mjölkningsfrekvens. Hur stor degradering av mjölkproteiner som förekommer i mjölken har stor betydelse för osttillverkning. Ju mindre andel kasein det finns i mjölken desto sämre blir ostutbytet.

Konklusioner

Denna studie visar på förväntade förändringar i mjölmängd och mjölksammansättning vid ökning av mjölkningsfrekvensen. För att få fram resultat på mjölmängd och mjölksammansättning i ett uthålligt perspektiv bör framtida försök pågå under längre tid än vad detta försök gjorde. Proteinhalten och kaseinhalten hade eventuellt påverkats annorlunda om försöket pågått under en längre tid. I denna studie inkluderades inte resultaten från lagrade mjölkprover på protein och kasein vilket kan vara intressant att ta med i framtida studier. Lagrade prover påverkar även resultat för plasmin och plasminogen och framför allt proteolys av mjölkproteiner.

Tack

Jag vill främst tacka handledaren Kerstin Svennersten-Sjaunja för all hjälp. Tack till stallpersonalen som hjälpte till under mjölkkningsförsöket och främst till Märta Blomqvist för all information som vi har fått om korna i stallet. Laboratoriepersonalen både på Svensk Mjolk och Kungsängen har bidragit stort med alla siffror som ni har fått fram via analyserna. Kerstin Olsson på Institutionen för husdjurens utfodring och vård var behjälplig vid analysen av natrium- och kaliumproverna. Tack till Lars Wiking för samarbetet och utbytet av information under detta arbete.

Referenslista

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Watson, J. D. 1994. *Molecular Biology of the Cell*, Third Edition, Garland Publishing, New York, s. 994
- Benfeldt, C., Larsen, L. B., Rasmussen, J. T., Andreassen, P. A. & Petersen, T. E. 1995. *Isolation and Characterization of Plasminogen and Plasmin from Bovine Milk*, International Dairy Journal, 5 (1995) 577-592
- Dahl, G. E., Wallace, R. L., Shanks, R. D. & Lueking, D. 1989. *Hot topic: Effects of Frequent Milking in Early Lactation on Milk Yield and Udder Health*, Journal of Dairy Science, 2004, 87:882-885
- Delamaire, E. & Guinard-Flament, J. 2006. *Longer Milking Intervals Alter Mammary Epithelial Permeability and the Udder's Ability to Extract Nutrients*, Journal of Dairy Science, 2006, 89:2007-2016
- Erdman, R. A. & Varner, M. 1995. *Fixed Yield Responses to Increased Milking Frequency*, Journal of Dairy Science, 1995, 78:1199-1203
- Ericson, B. 2004. Kungsängens forskningscentrum, Institutionen för Husdjursvetenskap, Kungsängens laboratorium, SLU, Uppsala
- Flynn, A. & Cashman, K. 1997. *Advanced Chemistry Volume 3: Lactose, water, salts and vitamins*, 2nd edition. Edited by P. F. Fox, Published in 1997 by Chapman & Hall, London
- Hale, S. A., Capuco, A.V. & Erdman, R. A. 2003. *Milk Yield and Mammary Growth Effects Due to Increased Milking Frequency During Early Lactation*, Journal of Dairy Science, 2003, 86:2061-2071
- Hillerton, J. E., Knight, C. H., Turvey, A., Wheatley, S. D. & Wilde, C. J. 1990. *Milk yield and mammary function in dairy cows milked four times daily*, Journal of Dairy Research, 1990, 57:285-294
- Kaartinen, L. 1995. *Physiology of the bovine udder*, The bovine udder and mastitis, Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L. & Pyörälä, S., University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, 1995
- Klei, L. R., Lynch, J. M., Barbano, D. M., Oltenacu, P. A., Lednor, A. J., & Bandler, D. K. 1997. *Influence of Milking Three Times a Day on Milk Quality*, Journal of Dairy Science, 1997, 80:427-436
- Klungel, G. H., Slaghuis, B. A. & Hogeveen, H. 2000. *The Effect of the Introduction of Automatic Milking System on Milk Quality*, Journal of Dairy Science, 2000, 83:1998-2003
- Lacy-Hulbert, S. J., Woolford, M. W., Nicholas, G. D., Prosser, C. G. & Steelwagen, K. 1999. *Effect of Milking Frequency and Pasture Intake on Milk Yield and Composition in Late Lactating Cows*, Journal of Dairy Science, 1999, 82:1232-1239
- Larsen, L. B., Rasmussen, M. D., Bjerring, M. & Nielsen, J. H. 2004. *Proteases and protein degradation in milk from cows infected with Streptococcus uberis*, International Dairy Journal, 14 (2004) 899-907
- Lindmark-Månsson, H., Fondén, R. & Pettersson, H-E. *Composition of Swedish dairy milk*, International Dairy Journal 13 (2003) 409-425
- Mantere-Alhonen, S. 1995. *Composition of milk, The bovine udder and mastitis*, Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L. & Pyörälä, S., University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, 1995
- Morag, M. 1973, *Two and Three Times-a-day Milking of Cows*, Acta Agriculture Scandinavia 23 (1973)

- Murphy, J. J. & O'Mara, F. 1993. *Nutritional manipulation of milk protein concentration and its impact on the dairy industry*, Livestock Production Science, 35 (1993) 117-134
- O'Brien, B., Ryan, G., Meaney, W. J., McDonagh, D. & Kelly, A. 2002. *Effect of frequency on yield, composition and processing quality of milk*, Journal of Dairy research (2002) 69 367-374
- Olsson, K. 2005. Institutionen för anatomi och fysiologi, SLU, Uppsala
- Patton, J., Kenny, D. A., Mee, J. F., O'Mara, F. P., Wathes, D. C., Cook, M. & Murphy, J. J. 2006. *Effect of Milking Frequency and Diet on Milk Production, Energy Balance, and Reproduction in Dairy Cows*, Journal of Dairy Science, 2006, 89:1478-1487
- Politis, I., Barbano, D. M. & Gorewit R. C. 1992. *Distribution of Plasminogen and Plasmin in Fractions of Bovine Milk*, Journal of Dairy Science, 1992, 75:1402-1410
- Politis, I. & NG Kwai Hang, K. F. 1989. *Environmental Factors Affecting Plasmin Activity in Milk*, Journal of Dairy Science, 1989, 72:1713-1718
- Puhan, Z. & Jakob, E. 1993. *Genetic variants of milk proteins and cheese yield*, International dairy federation proceedings of the IDF seminar held in Cork, Ireland, April 1983, Topic 4
- Rollema, H. S., Visser, S. & Poll, J. K. 1983. *Spectrophotometric assay of plasmin and plasminogen in bovine milk*, Milchwissenschaft, 1983, 38 (4)
- Sanchez, W. K. & Beede, D. K. 1994. *Interactions of Sodium, Potassium and Chloride on Lactation, Acid-Base Status and Mineral Concentration*, Journal of Dairy Science, 1994, 77:1661-1675
- Sapru, A., Barbano, D. M., Yun, J. J., Klei, L. R., Oltenacu, P. A. & Bandler, D. K. 1997. *Cheddar Cheese: Influence of Milking Frequency and Stage of Lactation on Composition and Yield*, Journal of Dairy Science, 1997, 80:437-446
- Sorensen, A., Muir, D. D. & Knight, C. H. 2000. *Thrice-daily milking throughout lactation maintains epithelial integrity and thereby improves milk protein quality*, Journal of Dairy Research, 2001, 68:15-25
- Spörndly, R. 2003. *Fodertabell för idisslare 2003*, SLU Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Rapport 257, Uppsala 2003
- Stelwagen, K., Davis, S. R., Farr, V. C. & Eichler, S. J. 1994^a. *Effect of Once Daily Milking and Concurrent Somatotropin on Mammary Tight Junction Permeability and Yield of Cows*, Journal of Dairy Science, 1994, 77:2994-3001
- Stelwagen, K., Politis, I., White, J. H., Zavizion, B., Prosser, C. G., Davis, S. R. & Farr, V. C. 1994^b. *Effect of Milking Frequency and Somatotropin on the Activity of Plasminogen Activator, Plasminogen and Plasmin in Bovine Milk*, Journal of Dairy Science, 1994, 77:3577-3583
- Stelwagen, K., van Espen, D. C., Verkerk, G. A., McFadden, H. A. & Farr, V. C. 1998. *Elevated plasma cortisol reduces permeability of mammary tight junctions in the lactating bovine mammary epithelium*, Journal of Endocrinology, 1998, 159:173-178
- Svennersten-Sjaunja, K., Sjaunja, L-O., Bertilsson, J. & Wiktorsson, H. 1997. *Use of regular milking records versus daily records for nutrition and other kinds of management*, Livestock Production Science 48 (1997) 167-174
- Tanhuanpää, E. 1995. *The structure of the udder*, The bovine udder and mastitis, Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L. & Pyörälä, S., University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, 1995
- van Boekel, M. A. J. S. 1993. *Transfer of milk components to cheese: scientific considerations*, International dairy federation proceedings of the IDF seminar held in Cork, Ireland, April 1983, Topic 1

van den Berg, M. G. 1993. *The transformation of casein in milk into the paracasein structure of cheese and its relation to non-casein milk components*, International dairy federation proceedings of the IDF seminar held in Cork, Ireland, April 1983, Topic 2

van der Iest, R. & Hillerton, J. E. 1989. *Short-term effects of frequent milking of dairy cows*, Journal of Dairy Research, 1989, 56:587-592

Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, A. & van Boekel, M. A. J. S. 1999. *Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Process*, 1999, kap: 2-3, s 27-147

Wiking, L., Frøst, M. B., Larsen, L. B. & Nielsen, J. H. 2002. *Effects of storage conditions on lipolysis, proteolysis and sensory attributes in high quality raw milk*, Milchwissenschaft, 2002, 57 (4)

Wiking, L. & Nielsen, J. H. 2004. *The influence of oxidation on proteolysis in rawmilk*, Journal of Dairy Research, 2004, 71:196-200

Åkerlind, M., Holtenius, K., Bertilsson, J. & Emanuelson, M. 1999. *Milk composition and feed intake in dairy cows selected for high or low fat percentage*, Livestock Production Science 59 (1999) 1-11

Östensson, K., Hageltorn, M. & Åström, G. 1988. *Differential Cell Counting in Fraction-Collected Milk from Dairy Cows*, Acta vet. Scand. 1988, 29, 493-500

Internetsidor

Delaval, 2005. http://www.delaval.com/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.htm, 2005-10-27

Hurley, W. L., 2005. <http://classes.aces.uiuc.edu/AnSci308/milkcomp.html>, Department of Animal Science, University of Illinois, Urbana-Champaign, 2005-09-15

Nr	Titel och författare	År
221	Ekologiskt uppfödda kycklingar – en jämförelse mellan två olika foder Organic rearing of broilers – a comparison between two feeds Åsa Lagerstedt	2006
222	Påverkas hästars intresse för människan av sociala och skötsel- mässiga aktiviteter? Does social activity and management routines affect the horses interest for humans? Lotta Sundqvist	2006
223	Fodersammansättningens betydelse för tillväxt hos häst Effects of diet composition on growth in foals Petra Forsmark	2006
224	Variation i växande halvblodshingstars viktökning och närings- utnyttjande Rose-Mari Åkerström	2006
225	Magnesiumstatus hos mjölkkor – en fältstudie Magnesium status in dairy cows – a field study Elin Briland	2006
226	Effekter av högt kaliumintag på magnesiumbalansen hos mjölkkor Effects of high potassium intake on the magnesium balance in dairy cows Cecilia Kronqvist	2006
227	Bagged silage – Comparison between two bagging machines and two harvesting systems with respect to silage quality and density Slangensilering – Jämförelse mellan två slangpressar och två två bärgningsmetoder med avseende på ensilagekvalitet och densitet Per Godin	2006
228	”Är korta spenar ett problem i samband med mjölkning?” ”Are short teats a problem when milking?” Anna Israelsson	2006
229	Betydelsen av tillgång till dricksvatten och duschar på mjölk- produktion, beteende och värmestress hos Murrah bufflar The effect of drinking water allowance and use of water sprinklers on milk production and behaviour in Murrah buffaloes Maria Svanfelt	2006
230	Konsekvenser av NORFOR-systemet vid beräkning av foderstater för mjölkkor Consequences from using the NORFOR feed evaluation system when calculating feed rations for dairy cows Charlotte Silfving	2006

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 10 eller 20 poäng i agronomexamen) samt större enskilda arbeten (10-20 poäng) vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet. En förteckning över senast utgivna arbeten i denna serie återfinns sist i häftet. Dessa samt tidigare arbeten kan i mån av tillgång erhållas från institutionen.

DISTRIBUTION:
Sveriges Lantbruksuniversitet
Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Box 7024
750 07 UPPSALA
Tel. 018-67 28 17
