



**Förändras mjölkens proteinsammansättning  
i separata juverdelar i samband med  
höga celltal (SCC)?**

Does milk protein composition in separate  
quarters change during high somatic  
cell count (SCC)?

av

**Maria Åkerstedt**

Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Examensarbete 181

---

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

---

**Uppsala 2003**



**Förändras mjölkens proteinsammansättning  
i separata juverdelar i samband med  
höga celltal (SCC)?**

Does milk protein composition in separate  
quarters change during high somatic  
cell count (SCC)?

av

**Maria Åkerstedt**

Handledare: Kerstin Svennersten Sjaunja  
Bitr. handledare: Lars-Ove Sjaunja

<b>ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>SAMMANFATTNING.....</b>	<b>4</b>
<b>INLEDNING.....</b>	<b>5</b>
<b>LITTERATURGENOMGÅNG.....</b>	<b>6</b>
MJÖLKBILDNING.....	6
Laktos.....	7
Mjölkfett.....	7
Mjolkprotein.....	7
Kasein.....	8
Löpe- och syra kasein.....	9
JUVERINFLAMMATION – MASTIT.....	11
Celler i mjölken.....	12
VARIATION I MJÖLKENS SAMMANSÄTTNING UNDER NORMALA FÖRHÅLLANDEN.....	12
VARIATION I MJÖLKENS SAMMANSÄTTNING VID HÖGA CELLTAL.....	14
FÖRÄNDRING I MJÖLKENS PROTEININNEHÅLL VID HÖGA CELLTAL.....	15
AVSKILJNING AV MJÖLK FRÅN SJUKA JUVERDELAR.....	18
SLUTSATS FRÅN LITTERATURSTUDIEN.....	18
<b>MATERIAL OCH METODER.....</b>	<b>19</b>
DJURMATERIALET.....	19
FÖRSÖKSUPPLÄGGNING.....	20
PROVTAGNING.....	21
PROVHANTERING.....	21
ANVÄNDA ANALYSMETODER.....	21
CMT - California Mastitis Test.....	21
Fluorescensbaserad cellräkning.....	22
FTIR - Fourier Transform Infrared Spectroscopy.....	22
Kaseinbestämning.....	23
RESULTATBEARBETNING.....	24
STATISTISK BEARBETNING.....	24
<b>RESULTAT.....</b>	<b>25</b>
MJÖLK FRÅN JUVERDELAR MED ETT LÅGT CELLTAL (SCC) ELLER ETT LÅGT CMT.....	25
EFFEKT AV FÖRHÖJT CELLTAL (SCC) ELLER CMT PÅ FETT, LAKTOS OCH MJÖLKMÄNGD.....	26
EFFEKT AV FÖRHÖJT CELLTAL (SCC) ELLER CMT PÅ PROTEININNEHÅLL OCH PROTEINSAMMANSÄTTNING.....	26
<b>DISKUSSION.....</b>	<b>29</b>
<b>KONKLUSIONER.....</b>	<b>32</b>
<b>ACKNOWLEDGEMENTS.....</b>	<b>33</b>
<b>REFERENSER.....</b>	<b>34</b>
<b>OPUBLICERADE KÄLLOR.....</b>	<b>36</b>

## Abstract

Today the milk production per cow is increasing but the milk delivered by the Swedish farmer contains fewer amounts of fat and protein than earlier. The contents have decreased since 1993. In average milk contain 4,2 percent fat and 3,4 percent protein. Earlier fat content in milk was important. Nowadays the dairy's attention has turned to the valuable milk proteins, principally the caseins, which have a considerable nutritional value and are important for several dairy products like cheese and yoghurt.

An inflammation in the udder which injures the udder tissue is called mastitis. Mastitis is a big problem among dairy cows. The immune system become activated when the cow gets mastitis which causes an increased somatic cell count in the milk as well as changes in the milk composition. Mastitis causes economical losses for the farmer, health problem for the cow and also problems for the dairy industry.

Knowledge about different factors affecting milk composition is therefore very important. The purpose of this study was mainly to investigate how milk protein composition was affected during an increased somatic cell count (SCC). Besides the protein composition, parameters like fat, lactose and milk yield have been studied. Compared to many other investigations this study was based on milk samples from each separate udder quarter. During a sub clinical mastitis, when milk is not visually affected, it is especially important to collect samples from each quarter to avoid dilution from the other healthy quarters.

The study was conducted on Kungsängen research station at the Department of Animal Nutrition and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. The cows participating in the study were from the ordinary research stock. 24 cows participated in the study, 12 of these participated twice. 18 out of 24 cows were milked in an AMS (automatic milking system) while the rest of the cows were in conventional stables. At seven occasions 140 quarter milk samples were collected.

To get a rough estimation of the cell count in the milk, CMT (California Mastitis Test) was used. But all samples were also analysed with electronic fluorescence based cell counting to get a more precise value of the cell count in the milk. This information was then used to decide which quarter that had an increased somatic cell count compared to the opposite quarter. To precipitate the casein rennet was used. Both the milk and the serum protein were then analysed by FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) to get values for fat-, lactose- and protein content. To measure the casein content an indirect method was used. The difference between the protein content in the whole milk and in the serum protein fraction was calculated to get a value for the casein content in the milk.

Most of the cows participating in this study had a very good udder health. Despite a low somatic cell count it was possible to detect several changes in the composition when a quarter had an increased SCC. The results from this study revealed that casein, casein number (casein:total protein), milk yield and lactose decrease significant with an increase in SCC. The whey protein on the other hand increased significant. The fat content and the total protein content had some tendency to increase with an increased SCC, but these results were not significant. The amount of milk decreased with 23-24 %, lactose decreased with 4-5 % while the serum protein increased with 7-8 %. The casein number decreased with 2,5 % in a quarter with an increased SCC. Maybe 2,5 % sound negligible but because the casein number is a

quotient between the casein content and total protein content such a decrease can have a considerable effect for the cheese making industry.

## Sammanfattning

Dagens kor mjölkar allt mer men mjölken som Sveriges bönder levererar till mejerierna innehåller allt lägre halter av fett och protein. I genomsnitt innehåller mjölken 4,2 procent fett och 3,4 procent protein. Information om innehållet av mjölkens proteiner, främst kaseinerna, har i dag fått större uppmärksamhet än tidigare då fetthalten var av stort intresse. Kaseinerna är viktiga på grund av deras näringsvärde samt deras betydelse vid framställning av mejeriprodukter såsom ost och yoghurt.

En inflammation i juvret, som leder till att juvervävnaden skadas, kallas mastit. Mastit är ett stort problem hos mjölkkor i dag. Vid mastit aktiveras immunförsvaret, vilket leder till ett ökat celltal i mjölken och förändringar i mjölkens sammansättning. Detta innebär ekonomiska förluster för lantbrukaren, i vissa fall lidande för djuret, samt problem för mejeriindustrin.

Kunskap om olika faktorer och hur dessa påverkar mjölkens sammansättning är därför mycket viktig. Syftet med denna studie var framförallt att undersöka hur mjölkens proteinsammansättning påverkas av ett förhöjt celltal. Förutom proteinsammansättningen har även parametrar såsom fett, laktos och mjölmängd studerats. Till skillnad mot många andra studier har denna utförts på juverfjärdedelnivå. Vid subkliniska mastiter, då mjölken visuellt inte är förändrad, är det speciellt viktigt att ta prover från varje juverdel för att undvika utspädning från de friska juverdelarna.

Studien genomfördes vid Kungsängens forskningsstation, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. Korna som ingick i studien valdes ut från den ordinarie försöksbesättningen. 24 kor ingick i studien, 12 av dessa var med i två provtagningsomgångar. 18 av de 24 korna som ingick i studien var inhysta i stallet med automatiskt mjölkningssystem (AMS) medan de övriga var inhysta i konventionellt stall. Vid sju provtagningsstillfällen har 140 juverdelsprover insamlats, vid fyra tillfällen ingick trespenta kor.

För att få en grov uppskattning av celltalet i mjölken har CMT (California Mastitis Test) använts, men alla prover har även blivit analyserade med hjälp av elektronisk fluorescensbaserad cellräkning för att få ett noggrannare värde på mjölkens innehåll av celler. Detta för att kunna bestämma vilka juverdelar som hade ett förhöjt celltal. För att fälla ut kaseinet i mjölken har löpemetoden använts. Både mjölken och vasslen har därefter analyserats på FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) för att erhålla värden på dess innehåll av fett, laktos och protein. För att bestämma kaseininnehållet i mjölken har en indirekt metod använts. Differensen mellan proteininnehållet i helmjölken och i vasslefraktionen har beräknats och på så sätt har man kunnat erhålla mjölkens innehåll av kasein.

De flesta korna som ingick i denna studie hade en mycket god juverhälsa, men trots detta kunde man vid relativt låga celltal även upptäcka förändringar i mjölken. Resultaten från denna studie visar att kasein, kaseintalet, mjölmängd och laktos minskar signifikant vid ett förhöjt celltal. Vassleininnehållet ökar däremot signifikant. Fett och totala proteininnehållet tenderar till att öka vid ett förhöjt celltal, men dessa resultat var dock ej signifikanta. Mjölmängden minskade med 23-24 %, laktos minskade med 4-5 % medan vassle ökade med

8-9 %. Kaseintalet minskade med ca 2,5 % på juverdel som hade ett förhöjt celltal, vilket kan verka obetydligt, men i och med att kaseintalet är en kvot mellan kaseininnehåll / totala proteininnehållet kan en sådan minskning ha en betydande effekt för bl.a. ysterierna.

## Inledning

Mjölakens sammansättning som råvara är grunden för mejeriprodukternas kvalitet och näringsinnehåll. Ökad kunskap om olika orsaker till förändrad mjölksammansättning är därför av intresse, för att kunna optimera kvalitetsegenskaperna hos mjölken.

Tidigare ansågs fetthalten i mjölken vara den viktigaste komponenten ur betalningssynpunkt. På senare tid har det emellertid också riktats mer uppmärksamhet mot mjölakens proteinhalt. Information om innehållet av mjölakens proteiner, främst kaseinerna, är viktig vid framställning av mejeriprodukter såsom ost och yoghurt. Mejerierna har därför ekonomiskt intresse av att kaseinhalten i mjölken är optimal. Både intakt kasein och nedbrutet kasein har en stor inverkan på mejerivarornas kvalitet och mjölakens karaktär vid behandling. Några egenskaper som påverkas är mjölakens värmestabilitet, utbyte, smak och mejeriprodukternas konsistens. Information om mjölakens kaseininnehåll är därför generellt sett mer relevant än upplysning om mjölakens totala proteininnehåll vid exempelvis osttillverkning. Det saknas snabba rutinanalyser för att enkelt erhålla ett värde på kaseininnehållet såsom det har funnits för proteininnehållet. Under de senaste åren har det kommit en FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) teknik med en "kaseinkanal", med vilken man direkt kan bestämma kaseininnehållet i mjölken.

Mjölakens sammansättning kan påverkas av flera faktorer såsom avel, utfodring, skötsel och sjukdomar. En av de vanligaste sjukdomarna som mjölkkor drabbas av är mastit, juverinflammation. Den vanligaste orsaken till mastit är att bakterier kommer in via spenkanalen, vilket kan leda till en inflammatorisk reaktion i juvret varvid bl.a. celltalet, SCC (Somatic Cell Count), i mjölken ökar. Vid mastit förändras mjölakens sammansättning och konsistens på ett ofördelaktigt sätt. Av en del undersökningar framgår det att mjölakens totala proteininnehåll i regel inte påverkas av ett ökat celltal, medan mjölkproteinets sammansättning förändras. Andelen vassleproteiner ökar och andelen av de värdefulla kaseinerna minskar. Några undersökningar har däremot inte funnit någon signifikant påverkan på kaseininnehållet vid ett ökat celltal. Eftersom det i genomsnitt endast är ca 1-2 juverdelar som är infekterade är det troligt att mjölk från den infekterade juverdelen späds ut med mjölk från de friska juverdelarna. Det vore därför väsentligt att i ett framtida skötselsystem kunna analysera mjölken på juverfjärdedelsnivå, dels för att hitta problemkorna och dels för att på sikt kunna avskilja den mjölk som är förändrad.

Syftet med detta arbete har varit att studera samband mellan mjölakens proteininnehåll, främst kasein, och celltal. Till skillnad från många andra sentida undersökningar har i denna studie prover tagits på juverfjärdedelsnivå, för att eliminera effekten av utspädning från de övriga, eventuellt friska juverfjärdedelarna.

# Litteraturgenomgång

## Mjölkbildning

Den lakterande mjölkkörteln är ett komplext organ som består av specialiserade celler som måste arbeta i harmoni med hela djuret under laktationen (Larson, 1995). Konsjuver består av två halvkor, varje halva har två spenar som har sina egna separata mjölkkörtlar.

Juvertjerdedelarna är separerade med bindväv och har separata mjölkuppsamlingsystem. Mjölken bildas i mikroskopiskt små körtelblåsor, så kallade alveoler. Alveolerna betraktas generellt som den huvudsakliga funktionella enheten i den lakterande mjölkkörteln och det är i alveolernas epitelceller som mjölken bildas. Alveolerna leder till grövre mjölkgångar som mynnar i ett hålrum längst ner i juvret, juvercisternen, som sedan leder ut i varsin spene. Det behövs flera tusen alveoler för att bilda en enda droppe mjölk. Flest alveoler har nykalvade och höglakterande kor (Swenson & Reece, 1993). Mjölkbildningen avtar successivt när alveolen är fylld eller om kon blir dåligt urmjölkad och mycket mjölk finns kvar i juvret. Vasselproteinet FIL (Feedback Inhibitor of Lactation) anses vara den komponent i mjölken som reglerar mjölksekretionen genom ett återkopplingsystem. FIL inhiberar mjölkbildningen genom att verka direkt på de sekretoriska epitelcellerna i juvret (Wilde, 1994).

Vid sinläggning förändras juvervävnadens struktur vilket bl.a. leder till att alveolerna tillbakabildas. Under senare delen av sinperioden återuppbyggs vävnaden (Bergsten *et al.*, 1997). Vid kalvning ökar blodcirkulationen genom juvret eftersom juvret förbereder sig för mjölkproduktion, om det är en höglakterande ko är blodgenomströmningen speciellt hög. Man har beräknat, genom att mäta koncentrationsdifferensen av aminosyror i vener och artärer, att 500 liter blod strömmar genom juvret vid produktion av 1 liter mjölk (Sandholm *et al.*, 1995).

Den övergripande mjölksyntes och sekretionsprocessen innefattar tillförsel av lämpliga beståndsdelar till mjölkkörteln via blodet, deras omvandling till mjölk samt mjölkens uttömning från körteln. Mjölk innehåller många unika beståndsdelar som man inte kan hitta någon annanstans i naturen och som syntetiseras i de specialiserade alveolcellerna i mjölkkörteln. Beståndsdelarna som används för mjölksyntesen kommer från blodet, vissa beståndsdelar passerar till mjölken helt oförändrade medan andra genomgår flera syntessteg i de mjölkbildande cellerna och nya mjölkkomponenter bildas (Larson, 1995).

De till koncentrationen största organiska komponenterna i mjölk, som syntetiseras i mjölkkörtelns celler är laktos, mjölkfett och mjölkproteiner. Laktos och mjölkfett används i första hand som energikälla till avkomman medan proteinerna främst används för uppbyggnad av vävnader (Sandholm *et al.*, 1995). Citrat är den fjärde största organiska komponenten i mjölk och har en viktig funktion genom att bilda ett starkt komplex med positiva joner, bl.a. kalcium. Citrat har därmed en betydande roll för jämvikten av mineraler i mjölken. Mjölkproteinets förmåga att koagulera vid löpetillsats och upphettning påverkas genom att citrat påverkar fördelningen av kalcium mellan dess uppbundna och lösliga fas (Hellander *et al.*, 1989). Andra beståndsdelar i mjölken är vissa salter (främst kalcium), som är essentiella beståndsdelar och krävs för skelettuppbyggnaden samt de salter (främst natrium, kalium och klorid) som krävs för produktion av intra- och extracellulära vätskor. Förutom detta innehåller mjölken vatten, spårämnen och vitaminer (Sandholm *et al.*, 1995).

## Laktos

Laktos, mjölksocker, utgör den största delen av kolhydraterna och produceras i mjölkkörtelns celler (Larson, 1995). I genomsnitt innehåller mjölken 4,6 % laktos men det kan variera mellan 3,8 och 5,3 % (Walstra *et al.*, 1999). Mjök är det enda stället i naturen där man kan hitta laktos. Laktos är en disackarid bestående av en molekyl glukos och en molekyl galaktos (Larson, 1995). Glukos är den enda grundsubstansen till laktos. Glukosmolekylerna kommer med blodet och tas upp i mjölkkörtelns epitelceller där galaktos bildas från glukos. Processen för att sedan bilda laktos från glukos och galaktos sker i flera steg. Enzymerna som krävs för detta finns bundna till golgiapparatusens membraner i epitelcellerna. I golgiapparaten sker bildningen av laktos (Swenson & Reece, 1993).

I normal mjök är laktos den viktigaste osmotiskt aktiva komponenten. Ungefär 40 % av det osmotiska trycket i mjök härrör från laktos som passerar genom epitelet endast i en riktning. Alveolernas epitel är mycket permeabelt för vatten vilket leder till att vatten lätt kan förflyttas in i alveolerna. Syntesen av laktos drar in vatten osmotiskt till alveolens hålrum från plasman och ansvarar därmed för bildning av mjölkens vattenfas. Vattenmolekylerna kan även förflytta sig i motsatt riktning vilket sker när kon är dehydrerad (Sandholm *et al.*, 1995).

## Mjölkfett

Mjölkfett består av ungefär 98 % triglycerider (Mephram, 1987). Dessutom finns mono- och diglycerider som ett resultat av ofullständig triglyceridsyntes (Sandholm *et al.*, 1995). Triglyceriderna innehåller en mängd olika fettsyror. I komjök har man identifierat inte mindre än 437 stycken, som skiljer sig åt i bl.a. kedjelängd och antal dubbelbindningar (Larson, 1995). De långa fettsyrorna ( $C_{18}$  och längre) kommer enbart från blodlipider, varifrån även en del av  $C_{16}$  också härstammar. De kortare fettsyrorna ( $C_4$ - $C_{14}$ ) syntetiseras i alveolcellen från acetat och  $\beta$ -hydroxybutyrat som transporteras från våmmen till juvret (Swenson & Reece, 1993). Andra fetter som finns i mjök är fosfolipider, kolesterol, fria fettsyror och diglycerider (Walstra *et al.*, 1999).

Våmmens mikrober har betydelse för syntesen av triglycerider genom att de påverkar sammansättningen av fettsyrorna som tas in via födan. Omättade fettsyror mäts helt eller delvis i våmmen och nya fettsyror formas innan de resorberas i tunntarmen (Sandholm *et al.*, 1995). Fettsyror, glycerol och andra intermediära komponenter syntetiseras i cytosolen medan biosyntesen av triglycerider sker i eller i närheten av det endoplasmatiska nätverket i mjölkkörtelns epitelceller (Swenson & Reece, 1993). Mjölkfettet syntetiseras oberoende av laktos och protein och kan variera ganska kraftigt (30-50 g/l) utan att det är onormalt (Sandholm *et al.*, 1995). Jerseykorna har dock en fetare mjök och innehåller i genomsnitt 5,54 % fett (Husdjursstatistik, 2000).

## Mjökprotein

Normal komjök innehåller 30-35 gram protein per liter mjök (Fox *et al.*, 1992). Även när det gäller innehåll av mjökprotein ligger Jerseykorna högre än de andra raserna och har närmare 40 gram protein per liter mjök (Husdjursstatistik, 2000). Mjökproteiner kan indelas i kaseiner och mjökserum (vassle) proteiner (Mephram, 1987). Omkring 80 % av mjökproteinerna finns i form av kaseinmiceller vilka är stora sfäriska komplex som innehåller 92 % protein och 8 % oorganiska salter, främst kalciumfosfat (Fox *et al.*, 1992) medan vassleproteinerna utgör omkring 20 % av proteinet (Sandholm *et al.*, 1995).



Kaseiner är organspecifika fosfoproteiner som fälls ut vid pH 4.6 eller med hjälp av enzymet chymosin som bildas i löpmagen. Vassleproteinerna är de som fortfarande befinner sig i lösning när kaseinerna fälls ut. Vassleproteinerna är en grupp av proteiner. Vissa är organspecifika ( $\beta$ -laktoglobulin och  $\alpha$ -laktalbumin) medan andra (immunoglobuliner och serum albuminer) är identiska med de proteiner som finns i blodet (Mephram, 1987).

Aminosyror tas upp från blodet och proteiner byggs upp i alveolens epitelceller.

Proteinsyntesen styrs av DNA-molekylen och många olika typer av proteiner bildas, som exempel kan nämnas mjölkproteiner som kasein och laktoglobuliner men också enzymer som används inne i alveolcellen (Larson, 1995). Proteinsyntesen sker i ribosomerna vid det endoplasmatiska nätverket varefter det transporteras till golgiapparaten där det innesluts i sekretoriska blåsor som kan exporteras från cellen (Harding, 1999).

Mjölksproteinets sammansättning är av stort intresse för mjölkens egenskap som mejeriråvara och bestäms huvudsakligen av:

- Genetiska varianter av mjölkproteinerna som uppkommer genom mutationer och ger upphov till förändringar i aminosyrasammansättningen. Detta kan påverka förhållandet mellan kasein och vassleproteiner (Schaar, 1981).
- Proteolys av mjölkens proteiner. Det finns alltid proteolytiska enzymer i mjölk, det viktigaste av dem är plasmin. Dess proenzym, plasminogen, bildas i levern och har som uppgift att spjälka blodkoagel. Plasmin binder till kaseinet i mjölken och bryter ner kaseinet, främst  $\beta$ -kasein, vilket ger upphov till lösliga peptider. När djuret blir äldre ökar proteolysen och även när djuret får mastit sker en kraftig aktivering av plasminogen. Plasmin är värmestabilt och därmed kan nedbrytningen fortsätta vid lagring av mjölk och mjölkprodukter (Schaar, 1985).
- Inflöde av proteiner från blodet till mjölken. Detta sker ofta vid mastit och under sinläggning på grund av att genomsläppligheten i blod/mjölk barriären ökar. Detta leder till att koncentrationen av proteiner i vasslefraktionen ökar medan syntesen av de mjölkspecifika proteinerna minskar (Schaar, 1985).

De två sistnämnda faktorerna är av stor betydelse vid mastit. Utfodring kan troligen inte påverka förhållandet mellan andelen kasein och vassleproteiner i någon större utsträckning (Schaar, 1985).

## Kasein

Kasein ger näring åt kalven. Förutom aminosyror utgör även kalcium och fosfat viktiga komponenter. Kasein kan binda stora mängder av kalciumfosfat och bibehålla detta i en stabil suspension (Walstra *et al.*, 1999).

Det finns ett antal olika kaseiner i mjölk, men att separera dem åt är inte lätt. När kasein fälls ut från mjölk med olika metoder såsom syra- och löpofällning, centrifugering efter tillsats av kalcium erhålls en blandning av kaseiner. Det var först när man fick tillgång till elektroforesutrustning som man kunde skilja ut tre olika kaseiner,  $\alpha$ -,  $\beta$ - och  $\gamma$ -kasein. Senare kunde  $\alpha$ -kasein separeras till  $\alpha_s$ -kasein, som är känslig för  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\alpha_s = \alpha$ -sensitive) samt  $\kappa$ -kasein som inte är känslig för  $\text{Ca}^{2+}$  (Walstra *et al.*, 1999).  $\kappa$ -kasein har en betydande roll vid osttillverkning och stabiliserar även andra kaseiner (Sandholm *et al.*, 1995).  $\gamma$ -kasein är en nedbrytningsprodukt av  $\beta$ -kasein. Mängden  $\gamma$ -kasein kan variera och beror på mjölkens ålder och temperatur (Walstra *et al.*, 1999).

Det finns olika modeller beskrivna hur kaseinmicellen ser ut, i detta arbete beskrivs endast Walstras (1999) modell. När kasein är i lösning och det är låg kalciumaktivitet bildas sfäriska aggregat, 12-15 nm i diameter, som innehåller 20-25 kaseinmolekyler. Dessa kallar man submiceller. Det är hydrofoba bindningar och saltbryggor som håller dessa strukturer samman. De mest hydrofoba delarna är vända inåt i submicellen medan laddade grupper återfinns i det yttre hydrofila lagret. Varje submicell innehåller olika kaseinmolekyler och har varierande sammansättning (Walstra *et al.*, 1999).

När kalcium och fosfat tillsätts i överskott, vilket sker i mjölkkörtelns sekretoriska celler, sker en sammanslagning av submicellerna till större enheter, de så kallade kaseinmicellerna. Förklaringen till denna sammanslagning är att deposition av kalciumfosfat i submicellerna minskar den elektriska laddningen och gör dem mer kompakta.  $\kappa$ -kasein har även en del av sin peptidkedja utstickande från micellen, likt hårstrån, vilket ytterligare ökar stabiliteten. Kaseinmicellerna i mjölken kan aggregera med andra miceller vid tillsats av kalciumjoner, etanol eller genom att höja temperaturen (Walstra *et al.*, 1999).

$\alpha$ - och  $\beta$ - kasein är fosfoproteiner vilka kan fällas ut med  $\text{Ca}^{2+}$  joner, medan  $\kappa$ -kasein är glykosylerad och kan skydda dem från utfällning och gör micellen stabil.  $\kappa$ -kasein är däremot känsligt för löpeenzymet chymosin som klyver bort en del av  $\kappa$ -kaseinmolekylen, vilket gör att den förlorar sin skyddande och stabiliserande förmåga. Som ett resultat av detta fälls hela kaseinmicellen ut med  $\text{Ca}^{2+}$  och löpeenzym, vilket används vid osttillverkning (Walstra *et al.*, 1999).

Ett annat sätt att skilja kaseinerna från de övriga proteinerna i mjölken är att använda sig av dess isoelektriska punkt. Vid pH 4,6 fälls kasein ut efter tillsats av syra. Centrifugering kan också användas, då erhålls en pellet av kaseinmicellerna (Fox *et al.*, 1992).

Mejerierna har ett stort ekonomiskt intresse av kasein på grund av att både intakt kasein och nedbrutet kasein har en stor inverkan på mejerivarornas kvalitet och mjölkens karaktär vid behandling. Några egenskaper som påverkas av kaseinkvaliteten är mjölkens värmestabilitet, utbyte, lukt/smak och konsistens på mejeriprodukter som ost och yoghurt. Vid förhöjda celltal ökar mjölkens proteolytiska aktivitet och därmed erhålls en minskad andel intakt kasein (Lynch *et al.*, 1998).

Ystningsegenskaperna påverkas på flera sätt av mastitmjölk, främst på grund av en mindre mängd kasein, förändrad kaseinmicellstruktur samt ett ökat pH. Ostkoaglet blir lösare, koagulerings tiden blir längre, vassleavskiljningen tar längre tid samt att osten innehåller mer vatten än normalt. Allt detta leder till ett sämre ostutbyte samt problem vid mognadsprocessen på grund av en ökad enzymaktivitet (Sandholm *et al.*, 1995).

### **Löpe- och syra kasein**

Vid osttillverkning vill man koncentrera kasein och mjölkfett. Det första steget är att fälla ut kaseinet som bildar ett nätverk vilket innesluter fett. För detta finns det huvudsakligen två sätt; utfällning med löpe eller syra (Walstra *et al.*, 1999).

#### Löpekasein

Löpefällning innebär att man använder sig av proteolytiska enzymer. Vanligen används löpe från kalvmage, chymosin och pepsin är de aktiva komponenterna som ingår i förhållandet 4:1.

Idag finns det även möjlighet att genom DNA rekombination få mikroorganismer att producera bovint chymosin. Chymosinets uppgift är att klyva bort den hydrofila delen av  $\kappa$ -kaseinets peptidkedja som sticker ut från micellen. Den utstickande peptidkedjan har en betydande roll för micellens stabilitet, vilken går förlorad när den till stor del klyvs bort. Den frigjorda kaseinmakropeptiden löser sig och finns i vasslen medan para- $\kappa$ -kasein fortfarande finns kvar i micellen (Walstra *et al.*, 1999).

Kasein = para- $\kappa$ -kasein + kaseinmakropeptid (CMP)

Den förändrade kaseinmolekylen kallas för parakasein och är olöslig. Parakasein är det kemiska namnet medan löpekasein är det kommersiella namnet. Para- $\kappa$ -kasein molekylnas hydrofoba delar slår sig samman efter att löpet klippt bort de hydrofila utstickande delarna av  $\kappa$ -kasein, detta bidrar till att parakasein micellerna i mjölken koagulerar och bildar en gel (Walstra *et al.*, 1999).

Kaseinmakropeptiden utgör ca 0,09 % enheter i mjölken, vilket innebär att löpekasein är 0,09 % enheter lägre än syrakasein. Kaseintalet när man faller med löpe är ca 73-74% (Walstra *et al.*, 1999).

### Syrakasein

När kasein faller ut med syra är mekanismen bakom utfällningen att kasein blir olösligt vid dess isoelektriska punkt (Walstra *et al.*, 1999). Kaseinet faller ut med en syra, exempelvis saltsyra vid pH 4.6. Kasein är det kemiska namnet medan syrakasein är det kommersiella namnet på produkten (Fox *et al.*, 1992). I kaseinet ingår här även kaseinmakropeptider, vilket innebär att syrakaseinhalten är 0.09% högre än löpekasein. Kaseintalet är ca 76 % (Sjaunja, 2002). Man bör därför ha i åtanke att dessa två metoder ger olika resultat på kaseintalet, vilket man måste ta hänsyn till innan man kan jämföra resultat från olika studier.

Generellt sett påverkas innehållet av kasein i mjölk både av handhavande och förvaring (tid och temperatur). Normalt är kaseinnedbrytningen liten i mjölk av god kvalitet. Preliminära studier har dock visat att kaseininnehållet minskar med tiden även i mjölk av god kvalitet som förvarats kyld på ett korrekt sätt (Lynch *et al.*, 1998).

I en studie av Andersson *et al.*, (2002) har man utvärderat tre IR metoder för kaseinbestämning i mjölk. Referensmetoden för kaseinbestämning i mjölk är Kjeldahls metod, vilken är en mycket tidskrävande metod, som kräver både utfällningssteg och kvävehaltsbestämningar. Två av metoderna som utvärderats baserar sig på utfällning med löpe respektive syra samt mätning av proteininnehållet före och efter utfällning. Den tredje metoden är en direkt mätning av kasein i mjölk med hjälp av FTIR. Vid användning av syrafällning krävs att man kalibrerar för protein i mjölk samt för den utspädning som sker vid tillsats av syra till provet då mjölken analyseras med IR-spektroskopi. Ättiksyra absorberar i samma våglängdsområde som protein vilket också kräver en kalibrering. Vid löpefällning kan man använda samma kalibrering för mjölk och filtrat och analysera dessa direkt efter varandra. Det sker heller ingen påtaglig utspädning av proverna vid tillsats av löpe och kalciumklorid. Utfällningen kan ske på ca en minut genom att använda löpe med hög koncentration. En annan fördel med löpemetoden är att det endast krävs tre våglängder (fett, protein och laktos). För användning i rutinverksamhet är detta en fördel på grund av att det underlättar kalibreringsarbetet. Den direkta metoden innebär att apparaten är kalibrerad för att direkt mäta innehållet av kasein i mjölk. Kalibreringen baserar sig på ett antal våglängder och

kalibreringsfaktorerna räknas fram genom statistiska metoder. Noggrannheten i de olika metoderna beskrivs genom standardavvikelse från linjär regression med referensmetoden som beroende variabel och IR metoden som oberoende variabel,  $s_{yx}$ , samt den motsvarande relativa standardavvikelsen, cv (%). Den direkta IR metoden kan användas för att göra en grov bedömning av kaseintalet mellan olika kor men ska man bestämma kaseintalet mer noggrant, vilket ofta är av intresse, är någon av utfällningsmetoderna att föredra. Resultat från undersökningen presenteras i tabell 1 (Andersson *et al.*, 2002).

Tabell 1. Noggrannhet hos de olika IR metoderna jämfört med referensmetoden för kaseinbestämning (Andersson *et al.*, 2002).

	oberoende variabel, $s_{yx}$ , (%)	cv (%)
Syrafällning IR metod	0,0337	1,31
Löpefällning IR metod	0,022	0,95
Direkt IR metod	0,0729	2,85

## Juverinflammation – mastit

När kroppen drabbas av en skada som till exempel en infektion, klämskada eller frostskada utlöses snabbt en försvarsmekanism för att begränsa och reparera skadan. Processen kallas inflammation och är kroppens försvars- och reparationssystem. En inflammation i juvret, som leder till att juvervävnaden skadas, kallas mastit. Den vanligaste orsaken till mastit är en bakterieinfektion som ofta sker via spenkanalen (Bergsten *et al.*, 1997). Mikroorganismer som normalt utestängs från mjölkörteln kan passera barriären in till spenkanalen och efter upprepade tillfällen har de etablerat en infektion (Cunningham, 2002). När detta inträffar aktiveras immunförsvaret vilket leder till ett ökat celltal i mjölken.

Subkliniska infektioner uppvisar inte några synliga förändringar i mjölken. Det finns dock ofta bakterier närvarande som orsakar en minskad mjölkproduktion samt en förändrad sammansättning. Kliniska mastiter karaktäriseras av förändrad mjölk, ett svullet och ömt juver och kan även uppvisa förhöjd kroppstemperatur, apati eller anorexia. Liksom vid subkliniska mastiter sker även vid kliniska mastiter en minskad mjölkproduktion, förekomst av bakterier i mjölken samt dramatiska förändringar i mjölkens sammansättning (Harding, 1999).

Juverinflammation förorsakar en förändring i mjölkens sammansättning vilket försämrar dess kvalitet. Mastitmjölk har en sämre förmåga att koagulera än normal mjölk vilket bl.a. leder till ost med högt vatteninnehåll och sämre kvalitet (Schaar, 1981). Den ökade proteolytiska aktiviteten i mastitmjölk orsakar nedbrytning av kaseinernas långa aminosyrakedjor till mindre fragment vilket innebär en sämre koaguleringsförmåga (Harding, 1999). Mjölken från kor med mastit har även sämre värmestabilitet bl.a. på grund av ett ökat pH (Sandholm *et al.*, 1995) samt ofta lukt- och smakfel som bl.a. härrör från anaeroba smörsyrebildande bakterier som trivs i mastitmjölk (Schaar, 1981) eller från den ökade lipolysen (Sandholm *et al.*, 1995).

Mastit innebär ekonomiska förluster för mjölkproducenterna till följd av minskad mjölkproduktion, behandlingkostnader, ökad arbetsinsats och ökade rekryteringskostnader. Enligt EU:s miljödirektiv får inte tankcelltalet på gården överstiga 400 000 celler/ml som ett genomsnitt över tre månader (Bergsten *et al.*, 1997). Om celltalet ligger mellan 251 000 celler/ml och 350 000 celler/ml erhålls varken tillägg eller avdrag för mjölken. Ligger celltalet över 351 000 celler/ml får lantbrukaren avdrag medan ett tillägg utbetalas om celltalet ligger på 250 000 celler/ml eller därunder (Arla Quality Assurance, 1999).

En av de efterföljande konsekvenserna från en mastit är att det bildas bindväv i juvret, vilket är ett försök från kroppen att avgränsa infektionen. Denna bindväv begränsar alveolernas utrymme, vilket leder till att mjölkkörtelns kapacitet minskar och kon kan inte producera så mycket mjölk som hon egentligen har kapacitet för (Cunningham, 2002).

### **Celler i mjölken**

Mjölk innehåller somatiska celler (Sandholm *et al.*, 1995). De har en betydande roll mot infektioner i mjölkkörteln (Roitt *et al.*, 1998). Celler i normal mjölk består av lymfocyter, makrofager, polymorfonukleära neutrofiler (PMN) och epitelceller (Concha, 2001). Lymfocyter känner igen antigen på patogenerna och fagocyterna innesluter och förstör patogenerna (Roitt *et al.*, 1998). Både makrofager och polymorfonukleära neutrofiler (PMN) är fagocyterande celler. Makrofager tar hand om cellskräp och invaderande bakterier. Makrofagerna är de celler som först stöter på och känner igen bakterier och informerar andra celler att initiera en inflammationsreaktion och immunitet. PMN ökar kraftigt när juvret drabbas av en inflammation, detta till stor del beroende av att neutrofiler förflyttas från blod till mjölk. De kan förflytta sig till inflammationsstället, fagocytera och förstöra bakterier samt ta bort skadad vävnad. Neutrofilerna betraktas som de viktigaste cellerna för juvrets försvar och uppstädning (Sandholm *et al.*, 1995). Samtidigt som PMN förflyttas till mjölken fagocyterar de inte bara de invaderade bakterierna utan även andra partiklar som fett och kasein (Harding, 1999). Hur mycket detta påverkar kaseininnehållet i mjölken vet man i dag inte.

Antalet somatiska celler, främst makrofager, är högt direkt efter kalvning och minskar snabbt i antal under laktationens första veckor för att sedan öka igen mot slutet av laktationen. En frisk ko producerar ett konstant antal somatiska celler varje dag. Därför beror antalet celler på två bidragande faktorer; en ökning i antal på grund av juverirritation och därmed attraktion av celler till platsen för inflammation eller en utspädningsfaktor som orsakas av mjölkavkastningen (Auld *et al.*, 1995).

Att mäta celltalet i mjölken är ett av de vanligaste sätten att detektera mastit. Antalet somatiska celler hos en frisk ko ska helst ligga under 100 000/ml omkring mitten av laktationen. De somatiska cellerna i en frisk juverfjärdedel består till största delen av makrofager, medan andelen polymorfonukleära leukocyter, främst neutrofiler, ökar markant vid en inflammation i juvret och kan då utgöra 90 % av de somatiska cellerna (Sandholm *et al.*, 1995). Huruvida cellsammansättningen påverkar kaseintalet är ett intressant men ännu outforskat område.

### **Variation i mjölkens sammansättning under normala förhållanden**

De faktorer som påverkar mjölkens sammansättning kan indelas i genetiska, fysiologiska och miljöfaktorer samt sjukdomar som kan drabba djuret. Under de genetiska faktorerna kan man nämna ras, besättning och individuella kor. Med besättning menas att människan ofta skapat en viss typ av besättning genom att gallra hårt bland egenskaperna vid avelsarbetet. Laktationsstadium och ålder ingår bland annat i de fysiologiska faktorerna. Miljöfaktorerna inkluderar fodret, skötsel, mjölkningsintervall och inhysning. Inflammation i juvret exempelvis orsakad av patogena bakterier minskar avkastningen, förändrar mjölkens sammansättning och ökar antalet somatiska celler. Svåra mastiter orsakar förändringar som gör att mjölken mer liknar blodserum (Walstra *et al.*, 1999).

I en rapport från Svensk Mjök (1996) som undersökt den svenska mjölkens sammansättning fann man att kaseinhalten varierade signifikant mellan olika delar av Sverige och att kaseinhalten hade signifikant variation under året. Det högsta medelvärdet hittade man i november månad och det lägsta i januari, maj och juni. Det vägda årsmedelvärdet låg på 2,56g kasein /100g mjök vilket var en signifikant minskning jämfört med den senaste stora undersökningen som gjordes 1966-71.

Om man ser till mjölkens totala proteinhalt, där totala halten kväve från kasein, vassleproteiner och icke proteinkväve som exempelvis urea och fria aminosyror ingår, har den också en signifikant variation både i olika delar av landet samt under året. Medelvärdet för proteininnehållet var högst i september och lägst i maj. Det invägda årsmedelvärdet var 3,37g protein /100g mjök vilket inte har förändrats sedan den äldre undersökningen.

Celltalet utgör också ett av kvalitetsmåten på mjök. Det invägda årsmedelvärdet var 233 000 celler/ml. Celltalet varierade inte signifikant mellan olika delar av landet men visade dock en signifikant variation under året och var högst i juli och lägst i november och januari (Lindmark-Månsson, 1996). En intressant iakttagelse är att studien visar att de högsta kaseinhalterna kunde återfinnas i november månad, då celltalet var det lägsta.

Ng-Kwai-Hang *et al.* (1982) utförde en studie där de samlade in 24 405 individuella mjökprover från heljuver för analys av protein, serumprotein, kasein och SCC under 17 månader. Syftet var att studera hur årstid, laktationsstadium, ålder och SCC påverkade protein, serumprotein och kaseininnehållet. De visade att alla variationskällor bidrar med en signifikant variation hos de studerade komponenterna. Proteininnehållet var i nära samband med serumprotein, kasein, fett och SCC. Korrelationskoefficienten ( $r$ ) var 0.92 mellan protein och kasein.

Kaseintalet (kaseinandel av totala proteininnehållet) var korrelerat med serumproteininnehållet ( $r = -0,85$ ) och för kaseininnehållet ( $r = 0,47$ ), vilket visar att kaseintalet påverkas mer av serumproteininnehållet än kaseininnehållet. Protein och kaseininnehållet var lägst i november och den högsta andelen protein, serumprotein kunde observeras i januari. Protein, kasein och serumprotein innehållet påverkades signifikant av var i laktationen kon befann sig. Upp till 60 dagar efter kalvning var det en tydlig minskning av protein, kasein och serumproteiner. Detta följdes av en gradvis ökning av alla tre komponenter i den resterande delen av laktationen (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1982).

Kons ålder hade också en signifikant betydelse på proteininnehållet. Mellan två och tre års ålder var det en liten ökning av det totala proteininnehållet och serumproteininnehållet medan kaseinandelen var oförändrad. När kon blev äldre än tre år var det en minskning i protein och kaseininnehållet medan serumproteininnehållet då förblev det samma. Minskningen i proteininnehåll när kon blev äldre berodde på att kaseinet minskade. Det var även en konstant minskning i kaseintal från 80,5 till 79,3 när kons ålder ökade från två till fyra år. (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1982).

I en fortsatt studie av Ng-Kwai-Hang *et al.*, (1984) redovisades resultat som stämde mycket väl överens med tidigare resultat av Ng-Kwai-Hang *et al.* (1982). De visade att korrelationen var negativ mellan avkastning och komponenterna fett, protein, serumprotein, kasein samt SCC, vilket betyder att när mjökproduktionen ökar, minskar mjölkens beståndsdelar.

Korrelationen mellan SCC och procent av fett och kasein var liten ( $r=0,03$  och  $r=-0,03$ ) och ej signifikant (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984).

I en studie av Claesson (1965) undersöktes hur olika mjölkkomponenter varierade under mjölkningens gång. Mjölken delades in i fem fraktioner och analyserades på dess innehåll. De kunde som förväntat se att koncentrationen av fett, som är den mest variabla komponenten, ökade under mjölkningens gång. Den första fraktionen hade ett fetthinnehåll på 1,58 % medan den sista fraktionen hade ett fetthinnehåll på 8,40 %. I medeltal låg fetthalten på 4,47 % med en standardavvikelse på 2,52 %. Innehållet av kasein uppvisade en mycket liten ökning i början av mjölkningen men stabiliserade sig när den nått ett maximum och minskade något i slutet av mjölkningen. Kasein varierade relativt lite under mjölkningens gång och låg i medeltal på 2,49 % med en standardavvikelse på 0,11 %. Laktos uppvisade samma mönster som kasein och i medeltal var laktosinnehållet i mjölken 5,40 % med en standardavvikelse på 0,13 %. Innehållet av totalprotein varierade inte heller märkbart under mjölkningen. Proteininnehållet låg i medeltal på 3,71 % med en standardavvikelse på 0,07 % (Claesson, 1965).

Även dag-till-dag variationer av mjölkens innehåll har studerats. Sjaunja (1986) fann att laktoshalten hade en relativ daglig variation på 2,1 % vid morgonmjölkningen och 2,4 % vid kvällsmjölkningen vid beräkningar baserade på resultat från en månad. Fetthalten varierade med en standardavvikelse på 0,33 %. Dessutom kunde en större variation studeras vid morgonmjölkningen jämfört med kvällsmjölkningen. Proteininnehållet visade en större standardavvikelse vid kvällsmjölkningen jämfört med morgonmjölkningen. Mjolkproteinet uppvisade en daglig variation med standardavvikelsen 0,12 % (Sjaunja, 1986).

## **Variation i mjölkens sammansättning vid höga celltal**

Vid en inflammation sker både kvantitativa och kvalitativa förändringar i mjölken på grund av de fysiologiska förändringarna som sker i kon. Flera förändringar sker samtidigt. Blodkärlens genomsläpplighet ökar vilket resulterar i ett ökat inflöde av joner, proteiner och inflammatoriska celler från blodet till mjölken. Epitelcellerna som producerar mjölken skadas och bryts ner vilket gör att enzymer frisätts. Enzymer som är inblandade i mjölksyntesen minskar medan de enzymer som är kopplade till den inflammatoriska reaktionen ökar. Detta innebär att enzymer som normalt finns i blodet ökar i mjölken på grund av att barriären mellan blod och mjölk upplöses. Plasmin bryter ner fibrin så väl som kasein och produkterna som bildas (peptider, aminosyror) är proinflammatoriska och verkar kemotaktiska för bl.a. polymorfonukleära neutrofiler. Mastitmjolk kan få ett transparent utseende som beror på att kasein blivit nedbrutet (Sandholm *et al.*, 1995).

Kvantiteten av huvudkomponenterna i mjölk minskar när juvervävnaden är inflammerad och man har beräknat att torrsubstansen minskar med 5-15 %. Mjölkens innehåll av fett vid en inflammation i juvret har visat lite olika resultat. Vid de flesta undersökningar har fetthinnehållet minskat med mindre än 10 %. Sammansättningen av fett har förändrats och därmed försämrats mjölkprodukternas kvalitet (Sandholm *et al.*, 1995). Den totala mängden fettsyror har ofta inte förändrats men mängden korta fettkedjor (C4-C12) har ökat medan de långa fettkedjorna (C16-C18) har minskat (Sandholm *et al.*, 1995, Walstra & Jenness, 1984). Även mängden omättade långa fettkedjor är högre i mastitmjolk. Dessa förändringar i fettfasen ökar den lipolytiska känsligheten i mjölken hos kor med mastit (Sandholm *et al.*, 1995). Vid jämförelse på juverfjärdedelnivå fann Claesson (1965) att fetthalten minskade vid mastit medan Husfloen & Tukiainen (2002) inte fann det hos kor med höga celltal.

Claesson (1965) undersökte mjölkens innehåll av olika komponenter under mjölkningens gång på juverdelar som fått diagnosen mastit. Diagnos ställdes genom kliniska och bakteriologiska undersökningar. Fettet som i normal mjölk stiger kraftigt mot slutet av mjölkningen visade i de infekterade juverdelarna en kraftigt reducerad kurva. I medeltal innehöll mjölken från de infekterade juverdelarna 4,20 % fett med en standardavvikelse på 0,83 % jämfört med de friska juverdelarna som hade en fetthalt på 4,47 % med en standardavvikelse på 2,52 %.

Laktoshalten i mjölk från kor med mastit minskar med omkring 10 %. Det finns en signifikant negativ korrelation mellan laktos och SCC (Sandholm *et al.*, 1995). Även i studier på juverfjärdedelsnivå har flera forskare funnit att laktoshalten minskar med ett stigande celltal (Claesson, 1965; Linzell & Peaker, 1972; Husfloen & Tukiainen, 2002). Att laktoskoncentrationen minskar till en följd av mastit kan antagligen vara en effekt av en skada på de alveolära epitelcellerna, vilket reducerar deras kapacitet att syntetisera laktos. En annan förklaring kan vara att många juverpatogener är kapabla att fermentera laktos och därmed minskar laktoskoncentrationen i mjölken på grund av dessa bakteriers aktivitet (Auldist *et al.*, 1995).

Bakteriernas toxin skadar de mjölkproducerande cellerna vid mastit, vilket leder till en minskad syntes av mjölkkomponenter, däribland laktos (Harding, 1999). När laktoshalten minskar leder detta till en störd osmotisk balans mellan mjölk och blod. För att försöka upprätthålla balansen strömmar natrium och kloridjoner från blodet till mjölken och koncentrationen av dessa joner kan öka tiotalet gånger jämfört med det normala (Sandholm *et al.*, 1995).

## **Förändring av mjölkens proteininnehåll vid höga celltal**

I flera undersökningar (Kitchen, 1981; Munro *et al.*, 1984; Husfloen & Tukiainen, 2002) har det framgått att det är liten eller ingen skillnad mellan mjölk från kor med mastit eller friska kor i avseende på den totala proteinkoncentrationen.

Proteinsammansättningen i mjölk med höga celltal kan dock ha upp till tio gånger högre koncentration av serumalbumin och immunoglobuliner jämfört med normal mjölk (Walstra & Jenness, 1984).

I en studie av Auldist *et al.*, (1995) studerades mjölksammansättningen under laktationen och mastiters inverkan på denna. Man fann att SCC, mjölkavkastning, koncentrationen av laktos, fett, totalprotein, kasein, icke-kasein protein, natrium, kalium och kalcium varierar genomgående under laktationens gång. Variationsmönstret var det samma för både friska kor och kor med mastit. Celltalet minskade markant efter laktationens början och ökade under senare delen av laktationen. Mjölken från korna med mastit hade högre koncentration av totalprotein, icke-kasein protein och natrium samt en lägre koncentration av fett, laktos, kasein och kalium.

Den signifikant högre koncentrationen av totalprotein registrerades vid de flesta provtagningstillfällena, speciellt vid tidigt och sent stadium i laktationen. Detta kan förklaras med att inflödet av plasmaproteiner till mjölken har överstigit den enzymatiska nedbrytningen av proteiner syntetiserade *de novo*, vilket resulterat i en ökning av den totala proteinkoncentrationen i mjölk (Auldist *et al.*, 1995).



Koncentrationen av kasein var högre under tidig och sen laktation. Förhållandet kasein:totalprotein hade de högsta värdena i mitten av laktationen. Detta gällde för både den friska gruppen och de som hade mastit. Mastitmjolk tenderade till att innehålla lägre koncentrationer av kasein och högre koncentration av icke-kasein proteiner genom hela laktationen men skillnaderna var inte signifikanta vid alla tillfällen. Trots detta var förhållandet kasein:totalprotein signifikant lägre i mjölk från kor som hade mastit vid de allra flesta provtagningstillfällena (Auld *et al.*, 1995).

I en studie av Urech *et al.*, (1999) användes juverfjärdedelsprover från kor som både hade friska juverdelar och juverfjärdedelar med subklinisk mastit, detta för att skilja hälsostatus från andra faktorer som kan påverka resultatet. De fann att det totala proteininnehållet ökade i mjölk från juverfjärdedelar med subklinisk mastit. Hos de friska korna utgjorde kaseinerna 82,5 % av det totala proteininnehållet medan de utgjorde 80,8 % hos korna med subklinisk mastit. Studien visade också att totala proteininnehållet och andelen kasein och vassleprotein genomgår signifikanta förändringar även om den subkliniska mastiten var lindrig. En ökad proteolys kunde återfinnas i juverfjärdedelar med subklinisk mastit, plasmin ökade sin aktivitet med 20 %. Även en signifikant ökning av NAGase aktivitet kunde studeras i dessa juverdelar (Urech *et al.*, 1999). NAGase (N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase) är ett lysosomalt enzym som härstammar från fagocyterna vid en inflammation (Sandholm *et al.*, 1995). NAGase visade en positiv korrelation med vassleproteiner och en negativ korrelation med kaseinproteiner (Urech *et al.*, 1999).

Coulon *et al.*, (1998) undersökte hur olika faktorer påverkade förhållandet kasein:protein och fann att detta förhållande varierade mycket lite under laktationens gång, med undantag för de sista veckorna innan kalvning och tiden precis efter kalvning. De fann också att förhållandet kasein:protein minskade signifikant ( $P < 0.05$ ) när celltalen i mjölken överskred 200 000 celler/ml, även om ingen klinisk mastit kunde observeras. Detta överrensstämmer med tidigare studier (Munro *et al.*, 1984) även om minskningen då inte var lika stor som i denna studie. Studien visade att förhållandet kasein:protein inte påverkades av utfodringen men att laktationsnummer däremot påverkade detta. Den vanliga förklaringen till detta är att när en ko har genomgått flera laktationer har hennes sekretoriska vävnad förändrats som ett resultat av eventuella mastiter i tidigare laktationer (Coulon *et al.*, 1998).

I en annan studie av Barbano *et al.*, (1991) undersökte man hur SCC påverkade ostutbytet och studerade därmed kaseininnehållet. När mjölken innehöll  $<106\ 000$  celler/ml var kaseintalet och ostutbytet högst. Ostutbytet och kaseintalet var signifikant lägre när SCC var  $>127\ 000$  celler/ml. Det visade sig vara mycket små förändringar i kaseintalet och effektiviteten av ostutbyte i mjölk med SCC mellan 127 000-1 300 000 celler/ml.

Resultaten man erhöll pekade på att den totala proteinmängden var högre och kaseintalet var lägre i mjölk med SCC  $>127\ 000$  celler/ml. Det mättes även intakt  $\alpha_s$ - och  $\beta$ -kasein samt proteasaktivitet. Intakt  $\alpha_s$ - och  $\beta$ -kasein som procent av proteininnehåll var högre i mjölk med låg SCC ( $<106\ 000$  celler/ml) än i mjölk med högre SCC ( $> 127\ 000$  celler/ml). Av resultaten i denna studie kan man även se att kaseininnehållet ökade med ett ökat celltal medan kaseintalet minskade med ett ökat celltal. I tabell 2 presenteras data från undersökningen.

Tabell 2. De olika celltalsgruppernas innehåll av olika komponenter (standard avvikelse inom parantes).

SCC (x1000) celler/ml	Antal partier	Fett (%)	Protein (%)	Kasein (%)	NPN (%)	Kaseintal
< 106	7	3,75 (0,21)	3,27 (0,15)	2,54 (0,11)	0,17 (0,02)	81,94 (0,80)
127-544	8	3,68 (0,16)	3,34 (0,17)	2,52 (0,12)	0,18 (0,02)	79,86 (0,71)
556-1 300	7	3,83 (0,24)	3,40 (0,26)	2,56 (0,19)	0,19 (0,02)	79,88 (0,99)
All mjölk	22	3,75	3,33	2,54	0,18	80,53

(Barbano *et al.*, 1991)

Av resultaten från Barbanos studie kan man se att kaseinet till och med ökar vid ett ökat celltal men att kaseintalet tydligt minskar. För att fälla ut kaseinet vid osttillverkningen användes löpemetoden. Resultaten från denna undersökning stämmer inte överens med Claesson (1965). Claesson (1965) gjorde studier på juverfjärdedelnivå där han visade att både det totala proteininnehållet och kaseininnehållet var lägre hos kor med förhöjda celltal.

Ng-Kwai-Hang *et al.*, (1982) kunde finna en liten icke signifikant negativ korrelation mellan SCC och kaseininnehåll. En ökning i proteininnehållet kunde observeras med ett ökat SCC ( $r=0.11$ ) och detta berodde främst på en ökning av serumproteiner ( $r=0.31$ ) i och med att kaseinet ej ändrades signifikant med SCC. Däremot minskade kaseintalet med ökat SCC ( $r=0.28$ ). SCC hade en signifikant effekt på kaseintalet som förändrades från 82.0 i mjölk med mindre än 100 000 celler/ml till 77.0 för mjölk som innehöll 3 000 000 celler/ml (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1982).

I deras fortsatta studie (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984) visade de att högt SCC var associerat med en lägre mjölkproduktion ( $r=0.16$ ). De observerade även att kaseininnehållet inte påverkades signifikant med ökat SCC och att kaseintalet minskade med ökat SCC precis som i deras tidigare studie.

Bach Larsen *et al.*, (2002) studerade variationen av kasein (kaseinkoncentration och kaseintal) i relation till ras, laktationsstadium, mjölkproduktion och celltal. Proverna uttogs som samlingsprov dvs. ett prov där mjölken från alla spenarna är blandade. Av de värden som erhöles kunde man inte finna något säkert samband mellan celltal och kaseininnehåll eller kaseintal. Man hade förväntat sig att både kaseininnehåll och kaseintal skulle minska med ett ökat celltal. Det bör dock påpekas att i materialet som undersöktes var det ett relativt litet antal prover som hade ett förhöjt celltal vilket kan ha haft betydelse för resultatet. I denna undersökning användes den direkta metoden för att bestämma kaseininnehållet i mjölken. Enligt Andersson *et al.*, (2002) är den direkta metoden den minst noggranna jämfört med syra och löpefällning.

I en undersökning av Claesson (1965) studerades mjölkens innehåll av olika komponenter under mjölkningens gång på juverdelar som fått diagnosen mastit. Kaseininnehållet visade sig vara lägre (2,14 %, standardavvikelse 0,12) jämfört med de friska juverdelarna (2,49 %, standardavvikelse 0,11). Kaseinet uppvisade en något mer uttalad variation under

mjölkningsgången än de friska juverdelarna. Totalprotein uppvisade mycket plana kurvor och låg standardavvikelse för både friska och sjuka juverdelar.

## **Avskiljning av mjölk från sjuka juverdelar**

Celltalet är främst en indikator på juverhälsostatus, men kan också delvis användas som en indikation på mjölkens kvalitet. Ofta är det ett mindre antal djur i besättningen som har mastit och celltalet i tanken beror därför på hur många dessa djur är och hur kraftiga inflammationerna är. Är celltalet i tanken för högt under en viss tidsperiod får lantbrukaren avdrag på den levererade mjölken, vissa mejerier betalar dessutom mer för mjölk med lågt celltal. Svenska mjölkbesättningar drabbas i genomsnitt av celltalsavdrag vartannat år.

En annan faktor som mjölken kan klassas ner av är om den har lukt- eller smakfel, vilket leder till sämre mejeriprodukter. När mjölken behandlas på mejeriet försvinner inte lukten eller smaken, den kan i vissa fall till och med förvärras efter behandling. Det finns många olika anledningar till lukt- och smakfel men en av anledningarna kan vara juverinflammation. Som tidigare nämnts ökar andelen blodkomponenter i mjölken och däribland lipas vilket kan leda till en ökad lipolys. Lipas spjälkar triglyceriderna och fria fettsyror uppstår vilket ger mjölken en besk smak. Efter en mastit kan fettmembranen få en sämre kvalitet samtidigt som mjölken innehåller mindre kasein. Kasein binder normalt upp en del av det lipas som naturligt bildas.

Det vore därför av stort intresse att kunna avskilja denna mjölk och därmed inte leverera den till mejeriet. I dag finns det utrustning för att separera mjölk från sjuka och friska juverdelar, vilket gör att man kan erhålla mjölken från den sjuka juverdelen separat medan mjölken från de övriga juverdelarna kan gå till tanken och skickas till mejeriet.

Om endast ett mindre antal kor har höga celltal är det möjligt att tankcelltalet inte påverkas i så stor utsträckning som den gör om en större andel av besättningen har kraftiga inflammationer. Det är dock mycket svårt att förutsäga när djuren ska drabbas av inflammationer och förloppet kan vid akuta mastiter förlöpa snabbt och celltalet ökar mycket kraftigt på bara några timmar.

Naturligtvis ska man sträva efter att inte behöva kassera någon mjölk, genom att arbeta för en god juverhälsa, men ibland kan det inträffa juverhälsostörningar som kräver detta. Att på ett enkelt sätt då kunna skilja mjölk från olika juverdelar skulle hjälpa lantbrukaren både praktiskt och ekonomiskt.

## **Slutsats från litteraturstudien**

Mjölkens proteininnehåll är av betydelse ur råvarusynpunkt bl.a. för ysterierna. Mjölkens betalningssystem grundar sig i flera länder bland annat på totala proteininnehållet och i avelsprogrammen ingår proteinmängd som en parameter. Förutom mängden protein i mjölken är sammansättningen också av betydelse såsom förhållandet mellan kasein och vassleproteiner. Mastit är en faktor som kan påverka kaseininnehållet i mjölken. De olika studier som utförts har emellertid kommit fram till varierande resultat huruvida celltalet påverkar mjölkens innehåll av kasein. De flesta studier som gjorts är genomförda på heljuvermjölk (mjölk poolat från alla juverfjärdedelarna) medan denna studie utförts på juverfjärdedelnivå för att undvika utspäningseffekten från de friska juverdelarna.

## Material och metoder

Studien genomfördes vid Kungsängens forskningsstation, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala. Korna som ingick i studien valdes ut från den ordinarie försöksbesättningen. 18 av de 24 korna som ingick i studien var inhysta i stallen med automatiskt mjölkningssystem (AMS) medan de övriga var inhysta i konventionellt stall. I AMS-stallet registrerades mjölmängden för varje juverdel separat medan mjölmängden i ett av de konventionella stallen registrerades på heljuvernivå och i ett annat registrerades inte mjölmängden. Vid fem av de sju provtagningsstillfällena togs proverna ut i AMS-stallet som har ett system för frivillig mjölkning, vilket medför att korna mjölkas 2-4 ggr/dygn. De andra två provtagningsstillfällena genomfördes i de konventionella stallarna, där mjölkning sker två gånger per dygn.

### Djurmaterialet

I studien ingick 24 kor av rasen svensk röd och vit boskap (SRB). 12 av korna var med i två provtagningsomgångar. Djuren valdes ut till studien om de hade förhöjda celltal, dvs. minst CMT 3 (California Mastitis Test) på en eller flera juverdelar. Det var emellertid viktigt att någon juverdel var frisk så att en jämförelse kunde göras mellan sjuka och friska juverdelar inom ko. Korna som studerades var i olika laktationsstadier och i olika åldrar. I tabell 3 beskrivs kornas status vid provtagningsstillfället och i tabell 4 redovisas om korna haft mastit enligt anteckningar i ladugårdsjournalen. De utfodrades enligt norm (Spörndly, 1995), dvs. 5 MJ/kg ECM (energikorrigerad mjölk (Sjaunja *et al.*, 1990)) samt tillägg för underhåll. Mängden kraftfoder var individuellt anpassad till kon, medan de hade fri tillgång till grovfoder och vatten. Dessutom tilldelades korna en lockgiva av kraftfoder varje gång de mjölkades.

Tabell 3. Kornas status vid provtagningsstillfället samt kg ECM/dygn, fett och proteinhalt (%) samt celltal (SCC/ml mjölk x 1000) vid provmjölkningen närmast provtagningsstillfälle.

konr.	lakt.nr.	lakt.vecka	provtagn.dat	ECM			
				(kg/dygn)	fett (%)	protein (%)	SCC(x1000)
528	6	42	02-10-03	15,9	3,9	3,8	10 <sup>1</sup>
		43	02-10-10	15,9	3,9	3,8	10 <sup>1</sup>
624	6	28	02-10-24	31,9	4,2	3,6	1120
		31	02-11-11	28,9	4,3	3,6	760
627	6	34	02-11-07	22,1	4,0	3,9	200
640	6	32	02-11-07	24,8	3,4	3,4	110
		36	02-12-04	26,0	6,2	4,1	270
658	5	30	02-11-07	12,9	3,6	3,7	60
		34	02-12-04	31,5	4,9	3,6	600
665	5	24	02-12-04	36,7	4,8	3,6	550
724	4	15	02-10-10	29,7	5,6	3,8	500
		20	02-11-11	17,0	4,4	3,6	10
742	4	6	02-10-16	40,7	4,3	3,4	40
758	4	39	02-10-10	20,6	4,4	3,8	100
		44	02-11-11	17,4	4,1	4,0	220
779	4	48	02-11-07	38,7	4,3	3,2	220
		52	02-12-04	39,4	3,9	2,9	80
781	4	19	02-11-11	36,2	4,3	3,5	80

796	3	46	02-11-11	24,5	4,2	3,6	80
828	3	43	02-10-10	25,7	5,5	4,0	90
837	3	3	02-10-24	31,1	5,2	4,3	960
843	3	19	02-12-04	38,2	4,3	3,2	1460
873	2	1	02-10-02	29,9	5,3	3,5	130
		6	02-11-07	36,5	3,4	5,4	110
885	2	34	02-10-16	33,5	5,2	3,8	1060 <sup>1</sup>
		35	02-10-24	33,5	5,2	3,8	1060 <sup>1</sup>
929	2	9	02-10-02	32,6	4,4	3,5	190 <sup>1</sup>
		10	02-10-10	32,6	4,4	3,5	190 <sup>1</sup>
931	2	2	02-10-24	40,8	4,4	3,6	40
989	1	2	02-10-03	29,3	5,3	3,3	66
		8	02-11-11	35,8	4,2	3,4	120
994	1	6	02-10-10	33,2	4,5	3,3	40
1014	1	8	02-10-16	28,9	4,6	3,5	30
1018	1	5	02-10-10	24,9	3,4	3,3	60 <sup>1</sup>
		6	02-10-16	24,9	3,4	3,3	60 <sup>1</sup>
1022	1	7	02-10-16	26,1	3,9	3,4	200

<sup>1</sup>Att värdena är desamma vid båda provtagningstillfällena beror på att samma provmjölkningstillfälle låg närmast de båda provtagningarna.

Tabell 4. Registrerade mastiter, uppgifter hämtade ur ladugårdsjournalen.

konummer	mastit	juverdel
624	02-10-03	vb
627	98-03-19	vf
	02-06-03	vb
658	98-12-04	vf
742	99-07-07	vb
758	00-01-25	vf+hf
	01-11-20	hb+vb
	02-10-01	hb
796	00-10-18	hb
	01-10-05	vf
837	01-11-01	hb
843	00-09-25	vb
	02-08-28	hb+vb
873	02-10-22	vb
929	02-09-25	hb+vb

### Försöksuppläggning

Försöksuppläggningsen baserades på att jämförelse gjordes inom juver för varje enskild ko. Juvret består av fyra helt separata juverkörtlar, där mjölk som är producerad i en fjärdedel under normala förhållanden inte passerar över till de andra. Med detta som bakgrund användes hypotesen att om mjölksyntesen i en juverdel är påverkad, t.ex. av förhöjt celltal, borde inte de övriga juverdelarna vara påverkade.

## **Provtagning**

Vid 7 provtagningsstillfällen samlades mjölkprover in från alla juverdelarna, totalt 140 prover (vid fyra tillfällen ingick trespenta kor) samt 36 heljuverprov. Den första provtagningen ägde rum 2-3 oktober 2002 och den sista 4 december, 2002. I AMS-stallet utfördes provtagningen med hjälp av en specialtillverkad utrustning som kopplades till mjölkkningsroboten. Roboten stängdes av efter att alla spenarna blivit tvättade, för att precis innan insamling av proven kunna kontrollera aktuellt CMT (för förklaring se nedan). Roboten sattes i gång omedelbart efter att tillräcklig mängd mjölk erhållits för CMT analys och mjölken samlades upp i fyra separata provkärl. Mjölk insamlades i dessa provkärl under hela mjölkningen. När mjölkningen var avslutad överfördes 250 ml mjölk från varje separat juverdel till provburkar som var förpreparerade med 250 µl bronopol.

I de konventionella stallarna kontrollerades CMT på de utvalda korna dagen innan provtagningsstillfället samt någon timme innan proven skulle tas ut. När prover samlades i dessa stallar utfördes provtagning vid två av tillfällena (7 november samt 4 december) helt för hand. Mjölkkningsorganet fick sitta på i ca en minut innan det togs av och provet mjölkades ut för hand. Detta innebar emellertid att vissa prover blev skröpiga så innan vidare analys kunde ske, filtrerades alla proverna genom ett stålfilter. En nackdel med denna provtagningsprocedur var att man inte erhöll mjölmängd för varje juverfjärdedel. I ett av stallen erhöles inte heller de enskilda kornas mjölmängd.

## **Provhantering**

När provtagningsomgången var avslutad fortsatte arbetet på laboratoriet. Förutom att mjölk från varje juverdel analyserades separat poolades också proverna till ett samlingsprov, s.k. heljuverprov, 35 ml från varje fjärdedel och 40 ml från varje juverdel om kon var trespent. Från varje prov uppmättes 60 ml i en mindre provburk som skulle användas för kaseinfällning samt ca 10 ml i ett rör för celltalsanalys. Rören med 10 ml mjölk skickades till Institutionen för husdjursgenetik, Sveriges Lantbruksuniversitet där de analyserades med avseende på celltal (SCC) med hjälp av ett Fossomatic 5000 instrument, tillverkat av A/S N.Foss Electric, Danmark.

För att erhålla mjölkens och vasslefraktionens innehåll av fett, laktos och protein kördes alla prover på ett Fourier Transform instrument, FT 120, Foss Electric, Danmark. Till detta krävdes ca 30 ml mjölk respektive vasslefraktion.

## **Använda analysmetoder**

### **CMT - California Mastitis Test**

CMT är en metod för att få en grov uppskattning av mängden celler i mjölk. Man mäter mjölkens DNA-innehåll. CMT vätskan innehåller en detergent, Na-lauryl sulfat (SDS), vilket löser upp cellernas membraner och väggar. Detta medför att DNA frisätts och bildar en gel med detergenten och ju mer celler det finns i mjölken desto mer DNA, vilket leder till att gelen får en högre viskositet. Vid utförandet blandas lika delar mjölkprov och CMT-vätska, provet och vätskan roteras väl på en testplatta (eller i en paddel) och bildningen av gelen bedöms visuellt efter ett par sekunder. I de nordiska länderna tillämpas en femgradig skala som gelens utseende bedöms efter (tabell 5) (för översikt se Sandholm *et al.*, 1995). I detta försök användes CMT för att identifiera kor med en eller flera juverdelar med förhöjt SCC.

Tabell 5. CMT klassificering och motsvarande celltal (celler/ml)

CMT klass (enl. skandinaviskt system)	Motsvarande celltal	Medelcelltal
1	< 200.000	100.000
2	150.000-500.000	300.000
3	400.000-1.500.000	900.000
4	800.000-5.000.000	2.700.000
5	> 5.000.000	8.100.000

(Sandholm *et al.*, 1995).

### Fluorescensbaserad cellräkning

SCC i mjölken kan bestämmas bl.a. med hjälp av elektronisk fluorescensbaserad cellräkning. Det finns olika instrument för detta. Fossomatic instrumentet, som är det vanligaste, har funnits på marknaden sedan 1974 och är i dag accepterad världen över som en snabb rutinmetod. Metoden bygger på att de somatiska cellerna blandas med en färglösning, etidiumbromid, som bildar ett komplex med DNA i cellerna (och bakterierna i mjölken). De infärgade cellerna utsänder rött ljus när de utsätts för ultraviolett (UV) ljus. Den fluorescerande signalen från de etidiumbromidinfärgade cellerna detekteras av en fotomultiplikator, som är kopplad till ett elektroniskt amplifikationssystem. Endast signaler som uppnår en viss nivå räknas som somatiska celler; signaler som ej uppnår denna gräns betraktas som falska signaler t.ex. från bakterier i provet, orenheter på skivan eller elektriska störningar (Holtorp, 1989). I försöket analyserades proverna med denna metod för att få ett aktuellt värde på antalet celler i mjölken.

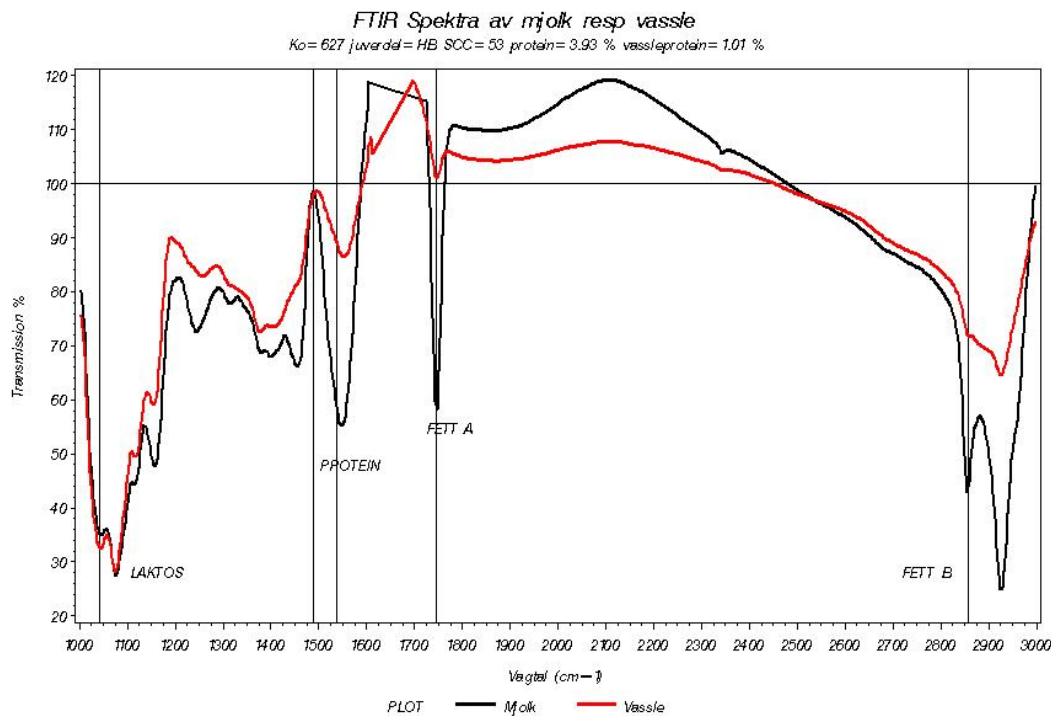
### FTIR - Fourier Transform Infrared Spectroscopy

FTIR interferometri analyserar hela det infraröda spektrat, vilket gör att man kan hitta helt nya tillämpningar och analyskomponenter. Infraröd (IR) analysteknik av en speciell komponent i mjölk baseras på mätningar av absorption av infraröd strålning vid specifika våglängder (MilkoScan FT 120 Reference Manual, 1996).

Energien från den elektromagnetiska strålningen är proportionell mot frekvensen av strålningen d.v.s. omvänd proportionell mot våglängden. När en molekyl utsätts för IR strålning kommer energin endast att absorberas om frekvensen på strålningen motsvarar frekvensen på vibrationerna i molekylen. Vibrationsenergin som karakteriseras av en kemisk grupp exempelvis C-H, O-H eller C=O beror både på bindingsstyrkan och massan av de två atomerna i gruppen (Fox *et al.*, 1992).

Tre våglängdsområden, som baseras på strålningens våglängd och frekvens, karakteriserar IR-spektrat: NIR (near IR) region från 0,7-2,5  $\mu\text{m}$ . MIR (mid IR) region 2,5-25  $\mu\text{m}$  samt far IR region 25-100  $\mu\text{m}$ . Mejerinäringen använder i dag rutinmässigt MIR metoden för analyser av mejeriprodukter. Mjölk har ett MIR spektra som är likt vatten och bestämning av vilka vågband som är specifika mjölkproteiner kan endast erhållas genom matematiska beräkningar av mjölkspektrat (Fox *et al.*, 1992). De matematiska beräkningar som krävs kan i dag kan utföras rutinmässigt tack vare den senaste utvecklingen inom datateknologi. På ett par sekunder kan ett interferogram erhållas från spektrofotometern, vilket behandlas och omvandlas till ett fullständigt spektra över provet (MilkoScan FT 120 Reference Manual, 1996). I försöket analyserades mjölken och vasslefraktionen med en MilkoScan FT 120 för att

erhålla värden på fett, laktos och protein. I figur 1 visas ett spektra med avseende på mjölk respektive den utfällda vasslen.



## Kaseinbestämning

För att kunna bestämma innehållet av kasein i mjölkproverna krävdes att kaseinet först fälldes ut. Utfällning av kasein utfördes med kalciumklorid och löpe enligt Arla Foods analysföreskrift kapitel 30-6 utgåva 004, 001210.

Till de 60 ml mjölk som uppmäts i en provburk tillsattes 100 µl CaCl<sub>2</sub> (48 %) och sedan värmdes provet i vattenbad till 40-41°C. Kalcium och värme gör att utfällningen påskyndas. När provet kommit upp i rätt temperatur tillsattes 300 µl löpe, provet blandades väl och fick stå i vattenbad ytterligare några minuter. Löpet innehåller proteolytiska enzym som klipper av de hydrofila utstickande delarna på κ-kasein mellan aminosyra 105 och 106, vilket motsvarar kaseinmakropeptiden (CMP). Detta bidrar till att micellerna spontant slår sig samman för att gömma sina hydrofoba delar. När micellerna slår sig samman kommer fettkulorna att bli inneslutna i det nätverk som micellerna kommer att bilda. Detta är anledningen till att fett och kasein kan koncentreras vid osttillverkning. Koaglet som bildats skars sönder i små bitar och provet fick stå och dra ytterligare någon minut. Detta steg kallas syneres och innebär att mer vatten pressas ut från koaglet, syneresen påskyndas av värme vilket var förklaringen till att provet fick stå kvar i vattenbadet ett par minuter. Provet filtrerades genom ett stålfilter (porstorlek 30 µm) ner i en ny provburk. Det utfällda kaseinet fastnade i filtret medan vassleproteinerna uppsamlades i en ny provburk. Till vasslefraktionen tillsattes en droppe Triton X-100. På grund av att CaCl<sub>2</sub> och löpe tillsattes i så små mängder till mjölkprovet kan man eliminera utspädningen av dessa i den uppsamlade fraktionen.

Kaseininnehållet erhöles genom att beräkna differensen mellan proteininnehållet i mjölken och vasslefraktionen. Vasslefraktionen analyserades på MilkoScan FT 120 vilket gav ett värde på dess proteininnehåll. När kasein fälls ut innesluts fett och detta utgör tillsammans



ca 5,5 %. Proteininnehållet i vasslefraktionen multiplicerades därför med en faktor, 0,945, för att få mjölkens faktiska innehåll av vassle (Sjaunja, 2002).

## Resultatbearbetning

Resultat har beräknats med avseende på både celltal och CMT. En ko betecknades ha ett förhöjt celltal när en juverdel hade 5 gånger så högt celltal som motsvarande juverdel (Nilsson, 1999, citat Husfloen och Tukiainen 2002). Vid jämförelser med avseende på CMT betecknades de som hade CMT 3 eller däröver ha ett förhöjt celltal. Om det inte fanns någon motsvarande juverdel att jämföra med, exempelvis att kon var trespent eller att motsvarande juverdel också hade ett förhöjt celltal, jämfördes juverdelarna på vänster respektive höger sida. Mjölmängd och fetthalt har endast jämförts med de främre respektive bakre juverdelarna.

Inga beräkningar har utförts med avseende på fett vid de provtagningar där korna handmjölkades. Detta på grund av att uttagning av prov skett vid en viss tid under mjölkningen och innehållet av fett varierar under mjölkningens gång vilket medför att dessa prov inte är representativa. Protein och laktos påverkas dock inte av detta i någon större grad (Claesson, 1965).

Den sista provtagningen har inte behandlats med det övriga materialet på grund av tekniskt fel på analysapparaten. Originalvärdena från denna provtagning finns dock med i bilagorna, de har alltså inte justerats som de övriga värdena har (se nedan).

Ett värde har även uteslutits från beräkningarna och det är ko 627 vf (vänster framspene) vars mjölk mer var likt serum och inte gick att fälla ut på samma sätt som de övriga proverna.

Värdena med avseende på totalprotein, vassle och kasein som erhöles från MilkoScan FT 120 har justerats på grund av att vasslenivån är överskattad då instrumentet ej är kalibrerat för filtratet. Justeringen av värdena har utförts efter motsvarande instrument som används vid Arla Ost i Falkenberg. Detta instrument är kalibrerat för att direkt kunna köra totalprotein samt proteininnehåll i filtratet, dvs. på samma kalibrering.

## Statistisk bearbetning

För att studera effekten av höga respektive låga celltal/CMT på mjölkens sammansättning har den statistiska analysen baserats på parat t-test för differensen mellan paren (Wonnacott & Wonnacott, 1977). Parat jämförelse medför i detta fall att effekter av laktationsnummer, laktationsstadiet, dräktighet, dag-till-dag variation etc. kan elimineras. Försöksuppläggningsen på differensen mellan juverdelar inom ko, s.k. "själv parade" behöver därför inga komplicerade statistiska modeller, eftersom djureffekterna elimineras. Differensen mellan juverdel med förhöjt celltal och motstående juverdel beräknades. Dessutom genomfördes differensberäkning också på friska juverdelar där kriteriet var att SCC inte fick vara 5 ggr högre i motstående juverdel och att CMT skulle vara 1 båda juverdelarna. Differensen för de friska fördelades slumpmässigt höger-vänster respektive vänster-höger. Sambandet mellan kasein och totalprotein studerades med hjälp av regressionsanalys.

## Resultat

För att ge en bild över försöksmaterialet beräknades medelvärde och standardavvikelse över mjölk mängd och mjölksammansättning på heljuvernivå vid det aktuella provtagningsstillfallet, se tabell 5. Resultaten med avseende på mjölkens sammansättning grundar sig på det poolade värdet, medan SCC utgör ett vägt medelvärde (beräknat med hänsyn till hur stor mjölkproduktionen är). Juverhälsan hos korna var god då SCC igenomsnitt var 124 000 celler/ml mjölk.

Tabell 5. Medelvärde och standardavvikelse av celltal (SCC/ml mjölk), mjölk mängd (kg), fett (%), laktos (%), protein (%), vassle (%), kasein (%) och kaseintal på heljuvernivå.

	Medelvärde	Standard avvikelse
SCC <sup>1</sup> (x1000)	124	103
Kg mjölk <sup>2</sup>	9,59	3,15
Fett % <sup>2</sup>	4,96	1,38
Laktos % <sup>1</sup>	4,68	0,32
Protein % <sup>1</sup>	3,56	0,29
Kasein % <sup>1</sup>	2,66	0,22
Vassle % <sup>3</sup>	0,90	0,11
Kaseintal <sup>1</sup>	75	2

<sup>1</sup>Beräknat på totalt 31 samlingsprov

<sup>2</sup>Beräknat på 26 samlingsprov, på en av provtagningsarna i det konventionella stallet registreras inte mjölmängden på enskilda kor, fettinnehållet vid dessa provtagningar utgör inte heller ett representativt prov

<sup>3</sup>Beräknat på totalt 30 samlingsprov p.g.a. att ett värde ej var med efter justering

### Mjölk från juverdelar med ett lågt celltal (SCC) eller lågt CMT

Jämförelse mellan juverdelar där det inte fanns någon skillnad i SCC eller CMT redovisas i tabell 6. Av resultaten framgår att det inte finns någon statistisk signifikant skillnad mellan juverdelar då de båda har ett lågt celltal/CMT. Om differensen beräknades mellan höger och vänster halva visade det sig att höger hade en signifikant högre fetthalt ( $p < 0,01$ ) och signifikant lägre protein och kaseinhalt ( $p < 0,05$ ),

Tabell 6. Medelvärde och standardavvikelse av mjölk mängd och mjölksammansättning i två motstående friska juverdelar. (n=11)

	Lågt		Motstående		Differens		
	SCC/CMT <sup>1</sup>		juverdel		Medel	Std avv	p-värde
Fett %	4,70	1,51	4,73	1,16	0,03	0,90	0,92
Laktos %	4,79	0,27	4,77	0,28	0,03	0,07	0,23
kg mjölk	2,82	1,30	2,77	1,07	0,05	0,39	0,66
Totalprotein %	3,37	0,27	3,41	0,30	-0,04	0,08	0,13
Kasein %	2,54	0,20	2,57	0,23	-0,03	0,08	0,23
Vassle %	0,89	0,10	0,90	0,10	-0,01	0,03	0,18
Kaseintal	75	2	75	2	-0,00	0,01	0,68

<sup>1</sup>Lågt CMT= CMT 1

## Effekt av förhöjt celltal (SCC) eller CMT på fett, laktos och mjölmängd

I juverdelar med förhöjt SCC eller CMT 3 och däröver var mjölmängden och laktoshalten statistiskt signifikant ( $p < 0,001$ ) lägre än motstående friska juverdel. Relativt sett sjönk laktoshalten mer än 4 % och mjölmängden kring 23-24 %. Fetthalten var däremot numerärt högre i den påverkade juverdelen, men skillnaden var ej statistiskt signifikant. Av tabellerna framgår det också att det fanns ingen skillnad i resultat om juverstörningen baserades på SCC (tabell 7) eller CMT (tabell 8).

Tabell 7. Fett och laktoshalt (%) samt kg mjölk i juverdel med lågt SCC respektive juverdel med förhöjt SCC<sup>1</sup>. (n= 36)

	Lågt SCC		Högt SCC <sup>1</sup>		Differens		p-värde
	Medel	Std avv	Medel	Std avv	Medel	Std avv	
Fett	5,02	1,33	5,18	0,95	0,15	0,78	0,30
Laktos	4,80	0,22	4,59	0,35	-0,21	0,26	<0,001
kg mjölk	2,96	1,11	2,27	1,01	-0,69	0,87	<0,001

<sup>1</sup>Högt SCC innebar att juverdelen hade fem gånger så högt celltal jämfört med motstående juverdel

Tabell 8. Fett och laktoshalt (%) samt kg mjölk i juverdel med lågt CMT respektive juverdel med förhöjt CMT. (n= 37)

	Lågt CMT <sup>1</sup>		Högt CMT <sup>2</sup>		Differens		p-värde
	Medel	Std avv	Medel	Std avv	Medel	Std avv	
Fett	5,02	1,32	5,15	1,01	0,12	0,78	0,37
Laktos	4,78	0,21	4,57	0,34	-0,22	0,26	<0,001
kg mjölk	2,92	0,98	2,21	0,83	-0,71	0,84	<0,001

<sup>1</sup>Lågt CMT = CMT 2 eller lägre

<sup>2</sup>Högt CMT = CMT 3 eller högre

## Effekt av förhöjt celltal (SCC) eller CMT på proteininnehåll och proteinsammansättning

Det totala proteininnehållet var inte statistiskt signifikant åtskilt mellan juverdel med lågt celltal/CMT och juverdel med högt celltal/CMT. Kaseinhalten var dock statistiskt signifikant lägre i en påverkad juverdel ( $p \leq 0,05$ ). Vasslehalten var också statistiskt signifikant högre både när juverstörningen detekterades med CMT och vid höjning av SCC. Den relativa ökningen var närmare 9 %. Den förändrade relationen mellan vassle och kaseinhalt resulterade i att kaseintalet i den påverkade juverdelen var statistisk signifikant lägre än i frisk juverdel. Skillnaden relativt sett var över 2 %, tabell 9 och 10.

Tabell 9. Totalprotein, kasein, vassle och kaseintal (%) i juverdel med lågt SCC respektive juverdel med förhöjt SCC. (n= 36)

	Lågt SCC		Högt SCC <sup>1</sup>		Differens		p-värde
	Medel	Std avv	Medel	Std avv	Medel	Std avv	
Totalprotein	3,54	0,29	3,58	0,29	0,04	0,19	0,26
Kasein	2,68	0,22	2,64	0,20	-0,04	0,12	0,047
Vassle	0,86	0,10	0,94	0,15	0,08	0,13	<0,001
Kaseintal	76	2	74	3	-2	2	<0,001

<sup>1</sup>Högt SCC innebar att juverdelen hade fem gånger så högt celltal jämfört med motstående juverdel

Tabell 10. Totalprotein, kasein, vassle och kaseintal (%) i juverdel med lågt CMT respektive juverdel med förhöjt CMT. (n= 37)

	Lågt CMT <sup>1</sup>		Högt CMT <sup>2</sup>		Differens		p-värde
	Medel	Std avv	Medel	Std avv	Medel	Std avv	
Totalprotein	3,58	0,32	3,61	0,32	0,03	0,18	0,32
Kasein	2,70	0,24	2,66	0,23	-0,05	0,11	0,015
Vassle	0,88	0,10	0,95	0,14	0,08	0,13	<0,001
Kaseintal	76	2	74	2	-2	2	<0,001

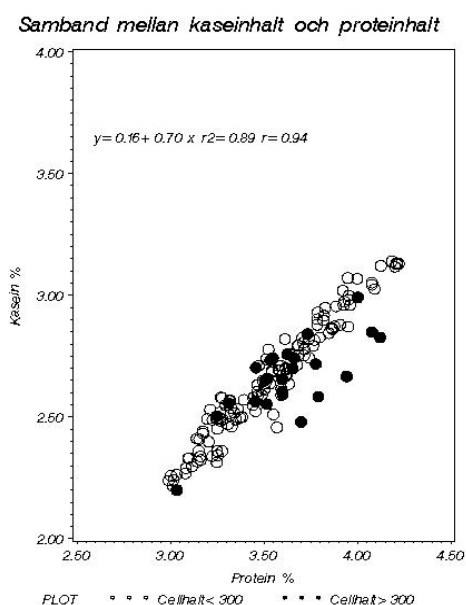
<sup>1</sup>Lågt CMT = CMT 2 eller lägre

<sup>2</sup>Högt CMT = CMT 3 eller högre

I figur 2 visas sambandet mellan kasein och totalprotein i de olika juverdelarna.

Korrelationskoefficienten i hela materialet var 0,94. Av figuren framgår att juverdelar med SCC över 300 000 celler/ml var avvikande. Om enbart juverdelar med SCC lägre än 300 000 celler togs med i beräkningen var korrelationskoefficienten 0,97.

Figur 2. Sambandet mellan kasein och totalprotein i hela försöksmaterialet



För att illustrera hur påtagligt kaseintalet kunde påverkades på en eller två juverdelar vid ett förhöjt celltal redovisas i tabell 11 några av korna som ingick i studien. Vad man också kan se är att kaseintalet på samlingsprovet (s) ofta döljer att en juverdel är kraftigt påverkad, vilket beror på utspädningseffekten. Även laktos och mjölk mängd uppvisar förändringar på juverdelar med ett förhöjt celltal.

Tabell 11. Celltal, CMT, mjölmängd och mjölksammansättning på några av de kor som ingick i studien.

ko	spene	SCCx1000	CMT	mjölk (kg)	fett (%)	laktos (%)	protein (%)	vassle (%)	kasein (%)	kaseintal c/p (%)
929	vf <sup>1</sup>	17	1	2,53	4,99	4,78	3,28	0,70	2,58	79
929	hf <sup>2</sup>	358	1	2,04	5,37	4,75	3,46	0,76	2,70	78
929	vb <sup>3</sup>	71	1	2,80	5,11	4,81	3,30	0,75	2,55	77
929	hb <sup>4</sup>	1139	4	1,93	4,68	4,15	4,08	1,23	2,85	70
929	s <sup>5</sup>	396		9,30	5,01	4,63	3,54	0,85	2,69	76
758	vf	21	1	2,23	5,43	4,82	3,53	0,75	2,78	79
758	vb	24	1	3,23	4,77	4,82	3,47	0,76	2,71	78
758	hb	1174	4	1,43	5,48	4,19	3,94	1,27	2,67	68
758	s	431		6,89	5,20	4,62	3,66	0,92	2,74	75
885	vf	24	1	1,51	6,01	4,83	3,74	0,99	2,75	73
885	hf	1583	4	1,19	6,33	4,50	4,12	1,29	2,83	69
885	vb	64	1	2,13	5,87	4,84	3,59	0,97	2,62	73
885	hb	49	1	2,00	5,57	4,80	3,64	1,00	2,64	73
885	s	313		6,83	5,94	4,74	3,78	1,06	2,72	72
796	vf	63	3	1,39	4,71	3,54	3,57	1,11	2,46	69
796	hf	77	3	1,10	4,85	3,84	3,55	1,04	2,51	71
796	vb	10	1	3,57	4,40	4,36	3,62	0,95	2,67	74
796	hb	7	1	4,44	3,02	4,49	3,62	0,92	2,70	75
796	s	52		10,50	4,22	4,07	3,59	1,00	2,59	72

<sup>1</sup> vf=vänster fram <sup>2</sup> hf=höger fram <sup>3</sup> vb=vänster bak <sup>4</sup> hb=höger bak <sup>5</sup> s=samlingsprov

## Diskussion

Resultatet från denna studie visar att mjölkens sammansättning påverkas i separata juverdelar vid ett förhöjt celltal. Det var främst mjölkens proteinsammansättning och laktoshalt som påverkades. Kaseintalet sjönk relativt sett med ca 2,5 % i den juverfjärdedel som hade ett förhöjt celltal eller CMT 3 och däröver. Laktoshalten och kaseininnehållet minskade signifikant medan vassleproteinerna ökade signifikant vid ett förhöjt celltal. Även mjölmängden minskade signifikant i dessa juverdelar.

Att det var en signifikant minskning av kaseintalet vid ett förhöjt celltal stämmer överens med vissa rapporter (Claesson, 1965, Auld *et al.*, 1995, Coulon *et al.*, 1998, Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1982) men inte med andra (Bach Larsen *et al.*, 2002). Hur mycket kaseintalet påverkas har också varierat mellan undersökningarna. En anledning till de varierande resultaten kan vara att de flesta andra undersökningar är utförda på samlingsprov, vilket kan medföra en utspädning från de friska juverdelarna. En annan anledning till varierande resultat är olika forskares kriterier för ett förhöjt celltal alternativt mastit, vilket också varierat mellan undersökningarna. En tredje förklaring kan vara att det i de olika studierna använts olika analysmetoder för kasein.

Att studera samlingsprov från hela juvret medför ofta att man missar en juverfjärdedel med ett förhöjt celltal. I en undersökning framgick det bland annat att CMT 3 eller däröver i en juverdel kunde observeras i ca 12 % av juverdelarna redan vid ett SCC på  $\leq 50\,000$  celler/ml i samlingsmjölken (Berglund *et al.*, 2002). Jämförelser inom ko verkar därför vara en bra metod för studier där man vill studera effekten av förhöjt celltal på mjölkens sammansättning. Genom att jämföra juverfjärdelar inom ko mot varandra behöver man inte heller ta hänsyn till miljö, laktationsstadium, ålder, utfodring och skötsel.

Definition av ett förhöjt celltal varierar. I en del undersökningar har man arbetat mer med kliniska mastiter (Claesson, 1965) då har förändringarna i mjölken varit mer grava. De studier där det förhöjda celltalet indikerat en subklinisk mastit har oftast en mindre förändring (Auld *et al.*, 1995), alternativt ingen förändring alls i avseende på kaseintalet kunnat observeras (Bach Larsen *et al.*, 2002). I vår studie hade korna i genomsnitt god juverhälsa, varför de flesta förändringarna i SCC eller CMT bör kunna hänföras till subkliniska mastiter. Jämförelser inom ko har utförts både med avseende på celltal och CMT, dessa två kriterier gav överensstämmande resultat.

Att kaseintalet hamnar på olika nivåer vid olika undersökningar kan bero på vilken metod som använts. Utfällning med löpe ger ett lägre kaseintal på grund av att kaseinmakropeptiden går förlorad i vasslefraktionen jämfört med syrafällning (Walstra *et al.*, 1999). Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1982 och Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984 har använt indirekt metod för kaseinbestämning. Metoden bygger på en infärgningsteknik, där proteinerna i mjölken reagerar med färg och bildar komplex. Dessa komplex filtreras eller centrifugeras bort och absorbansen på den kvarvarande lösningen mäts. Absorbansen är därmed omvänt relaterad till proteininnehållet. Bach Larsen, 2002 har i sin studie använt den direkta IR metoden vilken Andersson *et al.*, 2002, visat vara den minst noggranna metoden. Andersson *et al.*, 2002, visar i sin undersökning att löpefällning är den mest lämpade metoden för kaseinbestämning, vilket är den metod som använts i denna studie.

Vid en mastit, då bakterier ofta finns närvarande, kan bakteriernas toxin skada alveolernas epitelceller. Detta innebär att dessa celler får en reducerad förmåga att syntetisera olika

mjölkkomponenter som normalt bildas där, bl.a. kasein. Att kaseintalet minskar i mjölk som har ett förhöjt celltal kan också bero på att den proteolytiska aktiviteten ökar, som ett resultat av att genomsläppligheten mellan blod och mjölk minskar. Proteolytiska enzymer från blodet når mjölken och kan bryta ner kaseinet, vilket ger upphov till lösliga peptider som går förlorade i vasslefraktionen. Det viktigaste proteolytiska enzymet i mjölk är plasmin. Dess proenzym, plasminogen, aktiveras kraftigt när djuret får mastit. Plasmin binder till kaseinet i mjölken och bryter ner kaseinet, främst  $\beta$ -kasein, vilket ger upphov till lösliga peptider. Plasmin är värmestabil och därmed kan nedbrytningen fortsätta vid lagring av mjölk och mjölkprodukter (Schaar, 1985). Andra faktorer som påverkar kaseintalet kan vara de polymorfonukleära cellerna i mjölken, som kraftigt ökar i antal vid en inflammation. Dessa celler kan fagocytera kasein och fett, men i vilken utsträckning detta påverkar kaseintalet är okänt (Harding, 1999). Vid ett inflöde av proteiner från blodet sker även en utspädning av mjölkproteinerna vilket också kan leda till ett lägre kaseintal (Schaar, 1985).

Vad som också var intressant var att denna studie visade ett signifikant lägre ( $p \leq 0,05$ ) kaseininnehåll i mjölk med ett förhöjt celltal. Detta kunde visas både när ett förhöjt celltal baserades på celltal samt på CMT. I en undersökning av Urech *et al.*, 1999, vilken var en av de få studier som var utförd på juverfjärdedelsnivå, visades också en signifikant minskning av kaseinet även vid subklinisk mastit. I många andra studier (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1982; Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984; Auld *et al.*, 1995; Bach Larsen *et al.*, 2002) kunde inget samband mellan förhöjda celltal och kaseininnehåll visas. Barbano *et al.*, 1991 visade däremot att kaseininnehållet ökade med ett ökat celltal. I Barbanos studie analyserades partier av mjölk, som enbart delades in i tre grupper baserade på celltal, vilket innebar att mjölk från flera djur var sammanslagna och resultaten baserades på detta.

Som många andra forskare tidigare observerat minskade mjölmängden samt laktosinnehållet signifikant medan innehållet av vassleproteiner ökade signifikant vid ett förhöjt celltal. I denna undersökning minskade mjölmängden med närmare 25 % i juverdelar med ett förhöjt celltal, laktos minskade med 4-5 % och vassleinhållet ökade med 8-9 %. Ingen signifikant skillnad kunde dock observeras för fett och det totala proteininnehållet. I andra undersökningar har de visat ett ökat innehåll av totalprotein vid ett förhöjt celltal (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1982; Barbano *et al.*, 1991; Auld *et al.*, 1995). Detta kan förklaras av att inflödet av plasmaproteiner överstigit den enzymatiska nedbrytningen av proteiner syntetiserade *de novo*, vilket leder till en ökning av det totala proteininnehållet (Auld *et al.*, 1995). Claessons (1965) undersökning stämde inte med dessa, utan Claesson visade att totalproteininnehållet var lägre hos kor med ett förhöjt celltal. Om man i vårt material studerar de kor i undersökningen som ligger på ett celltal över 800 000 celler/ml på en spene kan man se tendenser till att totala proteininnehållet ökar. Det är dock för få kor som har så höga celltal att det går att dra några slutsatser från detta.

Trots att många av korna som ingick i studien hade en mycket god juverhälsa kunde det i de allra flesta enskilda fall observeras ett sänkt kaseintal när motsvarande spene hade fem gånger så högt celltal vilket var kriteriet för ett förhöjt celltal. De som hade störst skillnad i kaseintal var de juverdelar med ett förhöjt celltal som låg över 500 000 celler/ml och däröver. En mycket intressant ko är nummer 758 vb (vänster bak) som vid provtagningen den 10 oktober hade ett celltal på 1 174 000 celler/ml och ett kaseintal på 68 %. Motsvarande juverdel hade 24 000 celler/ml och ett kaseintal på 78 %. Det förstnämnda fallet kan förklaras med det höga celltalet i denna juverdel. En annan intressant iakttagelse är ko 796 som var med i provtagningen den 11 november. Denna ko uppvisar CMT 3 på vf (vänster fram) samt hf (höger fram) men endast 63 000 celler/ml respektive 77 000 celler/ml. Hon har ett kaseintal

på 69 % på vf och 71 % på hf, jämfört med de övriga spenarna som ligger på ett celltal kring 10 000 celler/ml och ett kaseintal på 74-75 %. Detta fall kan inte förklaras med ett högt celltal, dock indikerade CMT att något i mjölken var förändrat. Även laktosinnehållet var lägre. Detta indikerar att relativt små förändringar i celltal inom juver i en del fall redan kan ha orsakat förändringar i mjölkens sammansättning. Tilläggas bör att ko 796 hade haft mastit i två omgångar enligt ladugårdsjournalen men då på hb (höger bak) samt vf. (Se tabell 11)

I provtagningen som ägde rum i december, vilken inte behandlats med det övriga materialet finns också några intressanta skillnader. I denna provtagningsomgång ingick bland annat två kor med ca 4 miljoner respektive 7.5 miljoner celler/ml på en av spenarna. Kaseintalet sjönk med ca 5 % respektive 6 % på dessa juverfjärdedelar jämfört med motsvarande friska juverdel.

Vid en jämförelse mellan juverdelar där det inte fanns någon skillnad i SCC eller CMT visade att det inte finns någon statistisk signifikant skillnad mellan juverdelar då de båda har ett lågt celltal/CMT. Vid beräkningar då jämförelse utfördes mellan höger och vänster halva visade det sig att höger hade en signifikant högre fetthalt ( $p < 0,01$ ) och signifikant lägre protein och kaseinhalt ( $p < 0,05$ ). Anledningen till detta resultat är oklart, men kan eventuellt ha att göra med provtagningen eller mjölkningssystemet på något sätt.

Det är i dag av mycket stor vikt för lantbrukaren att leverera mjölk med ett lågt celltal. Om det skulle finnas möjlighet att avskilja mjölk med ett förhöjt celltal skulle detta ställas mot att få leverera en mindre mängd mjölk. Att få tillägg alternativt slippa avdrag för att mjölken innehåller för mycket celler är något varje lantbrukare strävar efter. Enligt EU:s direktiv ska celltalet ligga under 400 000 celler/ml i genomsnitt under tre månader. I Sverige har de flesta mejerier lägre gränsvärden. De lantbrukare som levererar åt Arla får i dag tillägg för mjölk som innehåller under 250 000 celler/ml. Ett större tillägg betalas ut om celltalet ligger under 200 000 celler/ml. Det är värt att diskutera vad som ska räknas som ”normalt” hos en frisk ko och om mejeriernas gränsvärden medför en ökad antibiotikaanvändning för att sänka celltalet. Kanske skulle det vara av intresse för mjölkbönderna att leverera viss del av mjölken med ett högt kaseininnehåll och ett lågt celltal separat för att vara speciell lämpad för ost och yoghurtproduktion?

Mejeriindustrin har ett mycket stort intresse av att mjölken ska ha ett lågt celltal samt ett högt kaseintal för att få ett så stort utbyte som möjligt. Man bör observera att ett lägre kaseintal på 2 % ger i genomsnitt 0,07 % lägre kaseinhalt. Inom ostindustrin är detta betydande skillnader. Trenden visar att mjölkdrickandet går ner medan ost och yoghurtkonsumtionen ständigt ökar. För ysterierna är det av stor betydelse att kunna erhålla ett så stort utbyte som möjligt. Vid yoghurttillverkning är kaseininnehållet viktigt för att  $\beta$ -laktoglobulin reagerar med den utstickande delen av  $\kappa$ -kaseinets peptidkedja vid kraftig upphettning till en hög temperatur. Detta leder till att kaseinmicellen blir täckt av denaturerade  $\beta$ -laktoglobulin, vilket ökar produktens vattenhållande kapacitet. Detta påverkar viskositeten och bidrar till yoghurtens konsistens (Walstra *et al.*, 1999).

En minskning av kaseintalet på enstaka procent innebär stora förluster för mejeriindustrin. Enstaka procent kan verka obetydligt men på grund av att kaseintalet är en kvot av kaseininnehåll / totalprotein innebär det att kaseininnehållet minskat betydande vid ett par procents minskning av kaseintalet.



I vidare studier skulle det vara av intresse att fortsätta studera ett större antal kor på juverfjärdedelnivå som har en juverdel med förhöjda celltal. Det skulle då vara möjligt att bättre kunna studera hur mycket kaseintalet påverkas vid olika celltal och även jämföra detta mot samlingsprovet. Det skulle också vara av intresse att studera vilka andra faktorer, förutom celltal, som skulle kunna påverka kaseintalet.

## **Konklusioner**

- Kaseintalet minskar statistiskt signifikant, med ca 2,5 % vid jämförelse inom juver när en juverdel hade ett förhöjt celltal
- Mjölkmängd och laktos minskar statistiskt signifikant i dessa juverdelar. Vassleproteinerna uppvisar däremot en signifikant ökning i de juverdelar med ett förhöjt celltal
- Mjölakens innehåll av fett och totalprotein uppvisade inga statistiska skillnader mellan friska juverdelar och de som hade ett förhöjt celltal, dock kunde man observera tendenser till att dessa komponenter ökade vid stora skillnader i celltal/CMT
- Kaseintalet kan minska markant även om juverdelen som betraktas har ett förhöjt celltal på under 100 000 celler/ml
- Resultaten från denna studie visar vikten av att göra jämförelse inom ko för att kunna detektera förändringar

Detta examensarbete har visat att effekter av mastit bör jämföras mellan juverdelar inom ko. Även vid små förändringar (50 000 celler) inom ko medför att förändringar i mjölakens sammansättning kan påvisas. Trots att många av korna som ingick i studien hade relativt låga celltal kunde dessa resultat noteras. För både mejeriindustrin och mjölkbonden är det av stort intresse att mjölken ska vara av så god kvalitet som möjligt.

## Acknowledgements

En studie som denna skulle naturligtvis inte kunna genomföras utan de underbara kor som behövdes för att få material till försöket, de var enormt tålmodiga och snälla när det skulle handmjölkas eller när något krånglade i AMS-stallet.

Förutom de fantastiska djuren jag har fått arbeta med finns det även ett antal personer jag skulle vilja rikta ett stort tack till:

Gunilla Helmersson, försökstekniker i E-stallet, som lärde mig mycket om hur kor och mjölkningsrobotar fungerar, men som även hjälpte mig med praktiska problem och ibland med handstyrkan jag saknade när provtagningsutrustningen skulle monteras upp.

Börje, Camilla, Håkan, Lena och Anne på laboratoriet på Kungsängen som ställt upp med handledning, labmaterial, goda råd och trevliga pratstunder! De har dessutom alltid varit mycket generösa och erbjudit mig vara på mjölkklab efter egna önskemål samt gett mig utrymme inne på lab när jag behövde.

Mina handledare Kerstin Svennersten-Sjaunja och Lars-Ove Sjaunja som gjorde det möjligt för mig att genomföra detta examensarbete och noggrant hjälpt mig omvandla allt material till ett mycket intressant examensarbete.

Märta Blomqvist, som försett mig med viktig information om korna samt lånat mig trevlig ”ko-litteratur” som jag varvat att läsa mellan de vetenskapliga artiklarna.

De gamla kollegorna vid mastitlab på SVA där jag varit och letat information samt fått hjälp att kontrollera CMT enligt deras rutinmetod på vissa av mina prover.

Mina vänner Katarina, Marlén, Monika, Anna, Cissi, Peter, Carolina & Micke och sist men inte minst Maria, Daniel och Jon för er ovärderliga datasupport som alltid är öppen!

Min familj Christina, Curt, Anne-Catherine, Stefan och Bonzo för att ni alltid ställer upp för mig och mormor Dagny som hjälpt mig att läsa igenom arbetet och letat grammatiska fel. Ett speciellt tack till min syster som hjälpt mig med skrivandet och för stöttning när det blåst motvind.

Ett stort tack även till finansörerna MIRIS AB samt Stiftelsen Lantbruksforskning, projekt fjärdedelsmjölkning, som gjort det möjligt att genomföra denna studie.

## Referenser

- Andersson I., Bendtsen A.B., Malmström C., Sjaunja L-O. 2002. Validation of three Infra Red methods for determination of casein in milk. Svensk mjölk forskning (under tryckning).
- Arla Quality Assurance. 1999. Valid as of July 1<sup>st</sup>, 1999. Production and design Inger Fagerberg, 1999.
- Auld M.J., Coats S., Rogers G.I., McDowell G.H. 1995. Changes in the composition of milk from healthy and mastitic dairy-cows during the lactation cycle. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35 (4), 427-436.
- Bach Larsen L., Rasmussen M., Bjerring M. 2002. Protein i mælk – Resultat fra analyser på enkelt-køer. Leverandörmaelkens indhold af kasein. Bilagsrapport juni 2002. Mejeriforeningen Danish Dairy Board.
- Barbano D.M., Rasmussen R.R., Lynch J.M. 1991. Influence of milk somatic-cell count and milk age on cheese yield. *Journal of Dairy Science* 74 (2), 369-388.
- Berglund I., Husfloen A., Tukiainen R., Pettersson G., Östensson K., Svennersten-Sjaunja K. 2002. Celltal i samlingsmjölk respektive separata juverfjärdedelar. Jordbruk i förändring – bondens traditionella och nya uppdrag. Jordbrukskonferensen 2002. SLU, Uppsala 19-20 november 2002. SLF Rapport nr 66. SLU Service/Repro 2002.
- Bergsten C., Bratt G., Everitt B., Gustafsson A.H., Gustafsson H., Hallén-Sandgren C., Olsson A-C., Olsson S-O., Plym Forsell K., Widebeck L. 1997. Mjölkkor. LTs Förlag, Helsingborg.
- Claesson O. 1965. Studies on the variation of the rennin coagulation time of milk. *Annals of the Agricultural College of Sweden*. Vol. 31.
- Concha Bascunan C. 2001. Activity of leukocytes in bovine mammary secretion and their responsiveness to mitogens and ginseng. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Coulon J-B., Hurtaud C., Remond B., Verite R. 1998. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cow's milk true protein: a review of recent INRA experiments. *Journal of Dairy Research* 65, 375-387.
- Cunningham J.G. 2002. Textbook of veterinary physiology, 5th ed. W.B. Saunders Company, USA.
- Fox P.F. (editor) 1992. Advanced Dairy Chemistry. Volume 1-Proteins. Blackie Academic & Professional, UK.
- Harding F. 1999. Milk quality. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Hellander E., Sjaunja L-O., Schaar J. 1989. Citrathaltens variation i komjölk och leverantörmjölk. Rapport 87, Institutionen för husdjursförädling och sjukdomsgenetik. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala, Sverige

- Holtorp C. 1989. Mastitis, milk quality and new EEC-regulations. *Scandinavian Dairy Industry* 3 (4), 46-49.
- Husdjursstatistik 2000. Svensk Mjök. Text & Tryck Totab AB, Hållsta, 2000.
- Husfloen A., Tukiainen R. 2002. Detektion av förhöjda celltal i ett automatiskt mjölkningssystem. Examensarbete 161. Institutionen för husdjurens utfodring och vård. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala, Sverige.
- Kitchen B.J. 1981. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: milk compositional changes and diagnostic tests. *Journal of Dairy Research* 48 167-188.
- Larson B.L. (editor) 1995. Lactation. The Iowa State University Press, Iowa.
- Lindmark-Månsson H. 1996. Den svenska mejerimjölkens sammansättning 1996. Svensk Mjök Rapport, Lund 1999-02-26. Reg nr 4968.
- Linzell J.L. & Peaker M. 1972. Day-to-day variations in milk composition in the goat and cow as a guide to the detection of subclinical mastitis. *British Veterinary Journal*. 128, 284-296.
- Lynch J.M., Barbano D.M., Fleming J.R. 1995. Indirect and direct determination of the casein content of milk by Kjeldahl nitrogen analysis: Collaborative study. *Journal of AOAC International* 81(4), 763-774.
- Mepham T.B. 1987. Physiology of lactation. Open University Press Educational Enterprises Limited, England.
- MilkoScan FT 120 Reference Manual 1996. MilkoScan FT 120, Type 71200 Reference Manual. Foss Electric, Hilleröd, Denmark.
- Munro G.L., Grieve P.A., Kitchen B.J. 1984. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. *Australian Journal of Dairy Technology* 39, 7-16.
- Ng-Kwai-Hang K.F., Hayes J.F., Moxley J.E., Monardes H.G. 1982. Environmental influences on protein content and composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science* 65 (10), 1993-1998.
- Ng-Kwai-Hang K.F., Hayes J.F., Moxley J.E., Monardes H.G. 1984. Variability of test-day milk production and composition and relation of somatic cell counts with yield and compositional changes of bovine milk. *Journal of Dairy Science* 67 (2), 361-366.
- Nilsson L. 1999. Personligt meddelande. Boehringer Ingelheim Vetmedica, Malmö. Citat Husfloen & Tukiainen, 2002.
- Roitt I.M., Brostoff J., Male D.K. 1998. Immunology, 5th ed. Mosby International Ltd, England.

Sandholm M., Honkanen-Buzalski T., Kaartinen L., Pyörälä S. (editors) 1995. The bovine udder and mastitis. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine. Gummerus Kirjapaino Oy, Jyväskylä.

Schaar J. 1981. Casein stability and cheesemaking properties of milk; effects of handling mastitis and genetic variation. Rapport 52, Institutionen för husdjursförädling och sjukdomsgenetik, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala, Sverige.

Schaar J. 1985. Aktuell husdjursforskning. Skärmutställning vid försöksledarmötet i Uppsala 1985. Konsulentavdelningens rapporter, Allmänt 80, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala, Sverige

Sjaunja L-O. 1986. Day-to-day variations in milk yield, milk composition and somatic cell count. International Committee for Recording the Productivity of Milk Animals (ICRPMA), 25<sup>th</sup> session, 21-23 maj 1986.

Sjaunja L-O., Baevre L., Junkarinen L., Pedersen J., Setälä J. 1990. A nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. ICEPMA, 27<sup>th</sup> session, July 2-6, Paris, France.

Spörndly R. 1995. Fodertabell för idisslare. Rapport 235, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala, Sverige.

Swenson M.J., Reece W.O. (editors) 1993. Dukes' physiology of domestic animals, 11th ed. Comstock Publishing Company, Cornell University Press, New York.

Urech E., Puhán Z., Schallibaum M. 1999. Changes in milk fraction as affected by subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 82 (11), 2402-2411.

Walstra P., Geurts T.J., Noomen A., Jellema A., van Boekel M.A.J.S. 1999. Dairy Technology. Marcel Dekker, Inc., New York.

Walstra P., Jenness R. 1984. Dairy chemistry and physics. John Wiley & Sons, Inc., United States of America.

Wilde C.J. 1994. Yearbook 1994. Hannah Research Institute. Thomson Colour Printers, Glasgow.

Wonnacott R.J., Wonnacott T.H. 1977. Introductory statistics for business and economics, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., United States of America.

### **Opublicerade källor**

Sjaunja L-O. 2002. Personligt meddelande. MIRIS AB, Uppsala.

Nr	Titel och författare	År
170	Fältundersökning om orsaker till klostridieförekomst i leverantörsmjölken inom området för Blekinge-Kronobergs Husdjurstjänst Investigations on the causes of prevalence of Clostridium spores in raw milk Linda Åkesson	2003
171	Rörelseförmågans betydelse för besöksfrekvensen hos kor i automatiska mjölkningssystem Influence of locomotion on voluntary milking frequency of cows in automatic milking systems Helena Kriström	2003
172	Betydelsen av social rang på beteende och mjölkningsparametrar i ett automatiskt mjölkningssystem (AMS) The importance of social rank on behaviour and milking parameters in an automatic milking system Maria Mehlqvist	2003
173	Introduktion av förstakalvare i AMS – en enkätstudie Introduction of helpers to an automatic milking system Marie Mörk	2003
174	Undersökning av sambandet mellan utfodring, motion och höftledsdysplasi respektive armbågsartros hos labradorer Mari Trogen	2003
175	Hygienisk kvalitet i fullfoder till mjölkkor Hygienic quality in Total Mixed Ration to Dairy Cows Anna Werner	2003
176	A Study on the Changing Role of the Native Buffalo in Farming Systems in the Mekong Delta Johan Bergström	2003
177	Cassava ( <i>Manihot esculenta Crantz</i> ) foliage – a crop by-product and potential protein feed for dairy cattle in Vietnam Katarina Arvidsson and Jenny Sandberg	2003
178	Vallfoderpreferens hos hästar Forage preferences of horses Jenny Redgård	
179	Automatisk mjölkning i kombination med betesdrift - Betydelsen av fri eller styrd kotrafik under betesperioden Automatic milking and grazing - The effect of free or forced cow traffic during the pasture period Malin Thors	2003
180	Oregano som fodertillsats – hur påverkas smågrisproduktionen? Oregano as a feed additive – effects on piglet production Lotta Jönsson	2003

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 59**