

# KOMPLETTERING AV SLUTRAPPORT

## Risk för härsken smak i mjölk ökar – kan vi göra något åt det?

**Hypotes** – Stearinsyra (C18:0) har mindre negativ inverkan på mjölkfettets stabilitet än palmitinsyra (C16:0) och kan minska de negativa konsekvenserna på mjölkfett vid mer frekvent mjölkning.

### Material och metod

Hypotesen testades i två försök, resultat från båda har redovisats i tidigare slutrapport men ett av försöken kördes om på grund av tekniska problem med utfodringen i slutet av försöket och i denna komplettering redovisas de resultat vi inte hade vid tiden för den ursprungliga slutrapporten. I den nya versionen av försöket användes 30 kor av raserna svensk röd boskap (SRB) och svensk Holstein (SH), en av dem uteslöts ur resultaten på grund av *Staph aureus* mastit. Korna delades in i tre grupper som tilldelades kraftfoder utan tillsatt fett (kontroll), med tillsats av rapsolja eller palmolja, med samma specifikation som första gången försöket utfördes. Under de första tre veckorna i försöket mjölkades korna två gånger per dygn (2x), med tolvtimmarsintervall. Sedan följde en vecka med fyra mjölkningar per dygn (4x), med sextimmarsintervall, och avslutningsvis ytterligare en vecka med två mjölkningar per dygn (2x) och tolvtimmarsintervall. Under hela försöksperioden registrerades mjölmängd vid varje mjölkning och mjölkprover togs sista två dygnen på respektive behandling (2x-4x-2x) och analyserades för protein-, laktos- och fettinnehåll, förekomst av fria fettsyror, mjölkfettets fettsyrasammansättning och mjölkfettglobulernas storlek.

Variansanalys utfördes med Mixed model i SAS (SAS version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC USA) och omfattade klassfaktorerna ko, försöksperiod, kraftfoder, mjölkningsfrekvens och ras samt att provtagning upprepades på respektive ko och att korna var nestade inom kraftfoderbehandling och antagande om autoregressiv kovariansstruktur (kommando "REPEATED/SUBJECT=COW(diet) TYPE=ar(1)"). Samspel mellan klassfaktorer testades men då inga signifikanta samspel hittades ingick dessa inte i de slutliga modellerna. Två modeller användes, där antingen effekt av mjölkningsfrekvens eller effekt av försöksperiod ingick eftersom det inte var möjligt att ha med båda dessa i samma modell på grund av att de är nära kopplade i försöksdesignen. Normalfördelning av residualer kontrollerades genom visuell inspektion. Vid signifikant effekt av fixa effekter jämfördes korrigerade medelvärden med t-test och P-värden för parvisa jämförelser korrigerades med Tukey-Kramers metod för att undvika överskattning av signifikansnivåer.

Korrigerade medelvärden (Least Squares Means=LSM) och standardfel (Standard Error of Means) anges som LSM±SEM i text och tabell 1.

### Resultat och diskussion

Mjölmängden var 29,8±1,1 kg vid försökets början och steg till 36,1±1,0 när korna mjölkades 4x per dygn (P<0,001). Effekten av den mer frekventa mjölkningen kvarstod under försökets sista vecka när korna återigen mjölkades 2x per dygn, och ökade till och med något till 38,2±1,1 kg (P<0,01). Sett över hela försöket var mjölmängden 32,3±0,8kg vid mjölkning 2x per dag och 34,5±0,9 vid mjölkning 4x per dag (P<0,001). Mjölmängden påverkades inte av utfodringen men skiljde mellan raserna (36,2±1,3 respektive 30,6±1,4 för SH respektive SRB, P<0,001).

Den högre mjölmängden under de sista två veckorna av försöket speglades i något lägre proteinhalt, vilket är förväntat då mjölken späds ut när mjölkbildningen ökar. Proteinhalten var 3,7±0,04 vid försökets start och 3,6±0,04 tre veckor in i försöket och sjönk till 3,49±0,04 under försökets sista två veckor (P<0,01). Mjölketthalten ändrades däremot inte under försökets gång och påverkades heller inte av mjölkningsfrekvensen. Däremot var den lägre (P<0,05) hos de kor som fick foder med palmolja (3,9±0,06) än hos korna som fick kontrollfoder (4,3±0,07) respektive foder med rapsolja (4,1±0,06). Laktoshalten var något högre hos SH än SRB (4,79±0,02 respektive 4,65±0,02; P<0,001). Juverhälsan var god (celltal<50 000) under hela försöket och påverkades inte av utfodring eller mjölkningsfrekvens.

Mjölkfettkulornas diameter tenderade att vara högre hos kor som fick foder utan tillsatt fett (P=0,0567) än hos kor som fick foder med palmolja eller rapsolja och diametern var 10% större när korna mjölkades 4x per dag jämfört med 2x per

dag ( $P < 0,001$ ). Det fanns inget samspel mellan dessa faktorer. Halten fria fettsyror i mjölk skiljde inte mellan kraftfoderbehandlingarna men var dubbelt så hög under 4x mjölkning som vid 2x mjölkning ( $P < 0,001$ ). Eftersom risken för härsken smak i mjölk beror på halten omättade fettsyror är mjölkfettsyrasammansättningen särskilt viktig för frågeställningen. Andelen fettsyror som syntetiseras i juvret, de korta så kallade *de novo*-fettsyrorna, sjönk med 9% när korna mjölkades 4x per dag, jämfört med perioden innan ( $P < 0,001$ ) och steg igen när mjölkningsfrekvensen återgick till 2x, dock var den fortfarande något lägre än innan veckan med 4x ( $P < 0,05$ ). Andelen *denovo*-fettsyror var högre hos kor som åt foder utan tillsatt fett än hos dem som fick foder med palmolja och rapsolja ( $P < 0,001$ ). Halten C18:0 visade omvänd variation; den steg med 30% när mjölkningsfrekvensen ökade ( $P < 0,001$ ) och sjönk sedan halvvägs tillbaka till ursprungsnivån när mjölkningsfrekvensen återgick till 2x och var högst hos de kor som åt rapsoljefoder och lägst hos dem som åt foder utan tillsatt fett ( $P < 0,001$ ). C16:0 steg däremot både när mjölkningsfrekvensen ökade från 2x till 4x och fortsatte även öka med ytterligare några procent sista försöksveckan ( $P < 0,001$ ).

Halten omega-3-fettsyror i mjölk sjönk med 30% ( $P < 0,001$ ) när mjölkningsfrekvensen ökade till 4x och låg kvar på den lägre nivån när mjölkningsfrekvensen återgick till 2x. Halten av den fleromättade konjugerade linolsyran, CLA, steg från 2x perioden till 4x perioden och fortsatte sedan stiga när mjölkningsfrekvensen återgick till 2x ( $P < 0,001$ ) så att den var dubbelt så hög i slutet av försöket än innan 4x perioden ( $0,43 \pm 0,03$  respektive  $0,20 \pm 0,02\%$  av totala mjölkfettsyrorna) men skiljde inte mellan de olika fodermedlen eller raserna. Halten av fleromättade fettsyror sjönk med 40% när mjölkningsfrekvensen ändrades från 2x till 4x ( $P < 0,001$ ) och sjönk ytterligare något när mjölkningsfrekvensen återgick till 2x ( $P < 0,05$ ) men skiljde inte mellan kraftfoder eller raser. Andelen av de enkelomättade fettsyrorna steg däremot kraftigt när mjölkningsfrekvensen ökade från 2x till 4x ( $2,04 \pm 0,3$  till  $5,3 \pm 0,4$  g/100 g fettsyror,  $P < 0,001$ ) och sjönk sedan något när mjölkningsfrekvensen återgick till 2x ( $4,23 \pm 0,4$ ) men den förändringen var inte signifikant. C18:1 fettsyror utgör en stor del av de enkelomättade fettsyrorna och de steg från  $1,1 \pm 0,4$  till  $4,4 \pm 0,4$  när mjölkningsfrekvensen gick från 2x till 4x ( $P < 0,001$ ) och sjönk sedan något till  $3,1 \pm 0,4$  g/100 g fettsyror när mjölkningsfrekvensen återgick till 2x men den förändringen var inte signifikant.

## Slutsats

Det var över lag små skillnader i mjölk kvaliteten mellan kor som fick foder med tillsats av palmolja och rapsolja. Hypotesen kunde därför inte styrkas men eftersom skillnaden var liten mellan fodren kan vi dra slutsatsen att det inte behöver vara någon nackdel för mjölk kvaliteten att byta ut palmolja mot rapsolja i foderstaten till mjölk kor som mjölkas i automatiska system eller av andra skäl har hög mjölkningsfrekvens.

Resultaten visar en stark effekt av högre mjölkningsfrekvens på mjölkfettkulornas diameter och halten fria fettsyror i mjölk, som båda ökar vid mer frekvent mjölkning. Detta är känt sedan tidigare, den nya kunskap som tillförs av denna studie är främst att mjölkfettets stabilitet hos kor som mjölkas mer frekvent inte verkar påverkas av om korna får rapsolja eller palmolja i kraftfodret. Det är lovande med tanke på att de fördelar som finns med rapsolja jämfört med palmolja i foderstater till svenska kor.

Resultaten visar också att det finns kvarstående effekter av mer frekvent mjölkning på mjölkfettsyntesen även när mjölkningsfrekvensen sjunker. Det antyder att regleringen av mjölkfettsyntes är komplex och ytterligare studier behöver utföras för att förstå dessa mekanismer.

## Kommunikation av resultat

Resultaten från studien kommer att spridas populärvetenskapligt via SLU hemsida på svenska och engelska (publicering 2016-04-06), i juninumret 2016 av LEARN (Livestock Extension and Research Network, SLU m fl) nyhetsbrev på svenska och engelska och som en forskningsnotis i majnumret av tidningen Husdjur, enligt överenskommelse med Ylva Persson som planerar publicering av forskningsnyheter. Den doktorand som jobbar i projektet har varit mammaledig senaste året och den vetenskapliga publiceringen måste vänta tills hon är i tjänst igen. Hennes disputation är planerad till 2016-09-30 och innan dess kommer manuskriptet att skickas in.

Tabell 1. Mjölkens sammansättning, fettsyrasammansättning, fettkulestorlek och halten fria fettsyror i mjölk hos kor som utfodrats med tre olika kraftfodermedel och haft mjölkningfrekvens (MF) två och fyra gånger per dygn med jämna mjölkningsintervall. Värden anges som korrigerade medelvärden (least squares means) och medelfel (standard error of means). N=10 kor per kraftfoderbehandling.

	Kraftfoder <sup>1</sup>			Mjölkningsfrekvens <sup>2</sup>		Ras <sup>3</sup>		Effekt av fixa faktorer		
	Kontroll	Palmolja	Rapsolja	2x	4x	SRB	SH	Foder	MF	Ras
<b>Mjölmängd, kg</b>	32,6±1,8	33,9±1,6	33,6±1,5	32,3±0,8	34,5±0,9	30,6±1,4	36,2±1,3	0,7508	0,0001	0,0014
<b>Mjölksammansättning</b>										
Fetthalt, %	4,34±0,07	3,94±0,06	4,09±0,06	4,13±0,04	4,12±0,05	4,14±0,06	4,10±0,05	0,0009	0,8352	0,5749
Proteinhalt, %	3,58±0,05	3,52±0,05	3,54±0,05	3,59±0,03	3,51±0,03	3,60±0,04	3,49±0,04	0,6421	0,0009	0,0597
Laktoshalt, %	4,70±0,03	4,74±0,03	4,72±0,02	4,72±0,02	4,74±0,02	4,65±0,02	4,79±0,02	0,5133	0,7779	0,0002
Fria fettsyror, (mmol/100g fettsyror)	0,21±0,01	0,20±0,01	0,20±0,01	0,16±0,01	0,31±0,02	0,21±0,01	0,019±0,01	0,5197	0,0001	0,0366
Celltal (antal/ml)	36534±1229	45113±1204	35027±1159	37949±1118	39355±1130	44627±1177	33466±1159	0,5847	0,6373	0,1980
<b>Mjölkfettkolor</b>										
Diameter, µm	4,4±0,1	4,1±0,08	4,2±0,08	4,0±0,05	4,4±0,07	4,1±0,07	4,3±0,07	0,0596	0,0001	0,1376
<b>Grupper av fettsyror (g/100g )</b>										
≤C14 (=de novo)	25,4±0,6	22,8±0,5	21,9±0,5	24,1±0,3	22,6±0,4	23,4±0,5	23,3±0,4	0,0002	0,0001	0,9236
Enkelomättade fettsyror	4,7±0,4	4,6±0,4	3,5±0,4	3,1±0,3	5,2±0,4	4,3±0,4	4,2±0,3	0,0782	0,0002	0,8689
Fleromättade fettsyror	4,2±0,4	4,3±0,3	4,4±0,3	4,8±0,2	3,8±0,3	4,2±0,3	4,4±0,3	0,9544	0,0219	0,7010
Omega 3	0,55±0,03	0,51±0,03	0,54±0,03	0,59±0,02	0,48±0,03	0,49±0,03	0,57±0,02	0,5772	0,0009	0,0295
CLA	0,28±0,04	0,33±0,04	0,38±0,03	0,32±0,02	0,34±0,03	0,34±0,03	0,32±0,03	0,1998	0,3214	0,5263
C18:1	3,6±0,4	3,4±0,4	2,6±0,4	2,1±0,3	4,4±0,4	3,3±0,3	3,1±0,3	0,1309	0,0002	0,7039
<b>Enskilda fettsyror (g/100g)</b>										
C16:0	31,9±1,0	27,2±0,9	25,3±0,8	27,3±0,5	29,0±0,7	28,5±0,8	27,8±0,7	0,0001	0,0043	0,4861
C18:0	10,6±0,5	12,5±0,4	14,1±0,4	11,2±0,3	13,7±0,3	12,1±0,4	12,8±0,3	0,0001	0,0001	0,1269

<sup>1</sup> Kraftfoder utan tillsats av fett (Kontroll), 4% tillsats av palmolja eller rapsolja.

<sup>2</sup> Mjölkningsfrekvens (2x=två gånger per dag och 4x=fyra gånger per dag)

<sup>3</sup> Svensk Röd Boskap (SRB) respektive Svensk Holstein (SH)



# SLUTRAPPORT

## Risk för härsken smak i mjölk ökar – kan vi göra något åt det?

### Projektgrupp

Huvudsökande för projektet var Professor Mikko Griinari på institutionen för husdjurens utfodring och vård, SLU. Medsökande var Jana Pickova på institutionen för livsmedelsvetenskap, SLU, och Lars Wiking, institutionen för livsmedelvetenskap, Aarhus Universitet, Danmark. Tidigt i projektet lämnade Mikko Griinari SLU och projektet överfördes till Margareta Emanuelson på institutionen för husdjurens utfodring och vård, SLU. I samband med detta kom även en annan medarbetare på institutionen för husdjurens utfodring och vård in i projektet; Sigrid Agenäs. En doktorand, Sabine Ferneborg på institutionen för husdjurens utfodring och vård, SLU, har också varit knuten till projektet.

### Bakgrund

#### Mjölkfettbildning – effekt av foderfett

Mjölkfettet utgörs till 96-99% av triglycerider, som består av en glycerolmolekyl och tre fettsyror. Dessa bildas i mjölkkörtelns sekretoriska celler. Fettsyrorna i mjölkfettet hos idisslare består till 50% av fettsyror med upp till 16 kolatomer. Dessa bildas i juvret från ättiksyra och smörsyra som är metaboliter från förjäsningen av strukturella kolhydrater i vommen. Resterande 50% är fettsyror med 16 kolatomer eller fler, som kommer till mjölkkörtlarna med blodet och tas upp av de sekretoriska cellerna. Dessa fettsyror ursprung är fett i fodret och de kommer till mjölkkörtlarna antingen direkt från mag-tarm kanalen eller så har de lagrats i fettvävnad och frigjorts därifrån.

De fettsyror som tas upp i mag-tarm kanalen är till absoluta huvuddelen mättade, även om det finns omättat fett i fodret. Det beror på att bakterier i vommen mättar omättade fettsyror, så kallad biohydrogenering. Genom denna process mättas t ex oljesyra (C18:1), linolsyra (C18:2) och linolensyra (C18:3) till stearinsyra (C18:0). I mjölkkörteln och fettvävnad finns ett enzym,  $\Delta^9$ -desaturas, som är specifikt för idisslare, som omättar stearinsyra till oljesyra (Bauman & Griinari, 2001). På grund av dessa processer är det liten överensstämmelse mellan fettsyrasammansättningen på fodret och mjölken hos idisslare jämfört med enkelmagade djur. Balansen mellan omättade och mättade fettsyror samt långa och korta fettsyror regleras av mjölkkörtlarna för att säkerställa att mjölkfettet inte blir alltför hårt. Hårt mjölkfett skulle orsaka problem med utsöndringen av mjölkfettet från körtelvävnaden.

#### Lipolys och härsken smak

Mjölkfettet förekommer som små fettdroppar, s.k. mjölkfettkulor, i mjölkens vattenfas. Fettkulorna består främst av triglycerider täckta av ett skyddande membran av fosfolipider. Under mjölkningen och när mjölk pumpas till mjölk tanken kan membranet skadas och enzymer som bryter ner triglyceriderna, främst lipoproteinlipas (LPL) kan komma i kontakt med mjölkfettet, vilket leder till frigörandet av fria fettsyror. Processen där LPL bryter ner triglyceriderna i mjölkfettet kallas lipolys. Kortkedjiga fettsyror, som är typiska för mjölkfett, har stark lukt och smak och när de frigörs genom inverkan av LPL uppstår det som karakteriseras som härsken smak hos mjölk. Smakfelen på härsken mjölk betecknas med uttryck som lipas, kräk, ädelost eller tvål. Förekomsten av lipolys kan ge en önskvärd karakteristisk arom hos vissa ostar men om för konsumtionsmjölk är lipolys ett allvarligt kvalitetsproblem. Härsken smak är det vanligaste smakfelet i färsk mjölk enligt Lindberg et al. (2004) men nyare sammanställningar för hela Sverige saknas. Även om förekomsten av härsken smak är relativt låg kan det för den enskilde lantbrukaren innebära stora problem om besättningen drabbas. I en undersökning som omfattade ca 4000 besättningar i Danmark (Wiking och Bjerring, 2010) fann man skillnader i förekomst av lipolys mellan tankmjölkprover. Dessa skillnader kunde härledas till olikheter i mjölkningsteknik och skötselsystem på gårdarna. Förekomst av fria fettsyror i mjölk i tanken var högre på gårdar som mjölkar uppbundet eller i AMS, än på gårdar med mjölkgrup (fiskben, tandem, parallell) och i karusell. Eftersom studien inkluderade 321 ekologiska mjölkbesättningar, var det också möjligt att

jämföra ekologiska och konventionella system. De ekologiska besättningarna hade en lägre förekomst av lipolys i tankmjölksprover oavsett mjölkningssystem.

### **Skillnad mellan ekologiska och konventionella gårdar**

Det var inte uppenbart varför mjölken i de ekologiska besättningarna var mindre påverkade av lipolys och eftersom det var en studie med provtagning på tankmjölk gav den inte underlag för att studera några mekanismer som kan vara involverade i detta. Forskarna som genomförde den danska studien lade dock fram hypotesen att skillnaden i förekomst av lipolys kunde bero på utfodringen, främst olikheter i typen av fett som förekom i foderstaten. Fettet som ingår i foderstaterna i konventionella besättningar kommer ofta från oljepalm och är rikt på mättat fett, huvudsakligen i form av palmolja (C16:0) medan kor i ekologiska besättningar i större utsträckning får sitt fett från ensilage och bete, som har en högre halt omättat fett, huvudsakligen i form av oljesyra (C18:1). Skillnader i sammansättningen av mjölkfettet mellan ekologiska och konventionella gårdar har även rapporterats tidigare (Jahreis et al., 1997; Ellis et al., 2006; Butler et al., 2008; Slots et al., 2009). I den senast genomförda, en svensk fältstudie, fann man också högre halter av fleromättade fettsyror, linolsyra (C18:2) och alfa-linolensyra (C18:3), i tankmjölksprover från ekologiska gårdar jämfört med konventionella gårdar (Fall och Emanuelson, 2010). Hypotesen om att skillnaden i förekomst av lipolys beror på utfodringen stöds också av tidigare studier där tillskott av mättat fett i foderstaten till mjölkkor har kopplats till förhöjda halter av fria fettsyror i mjölk (Wiking et al., 2005; Hedegaard et al., 2006) och motsatta effekter har observerats när omättade fetter inkluderas i foderstaten (Chilliard et al., 2003).

Beroendet av palmolja för utfodring av svenska mjölkkor är problematiskt, dels på grund av miljöhänsyn och för att detta är en importerad foderråvara. Det är därför intressant att undersöka andra fettkällor för utfodring av mjölkkor.

### **Skillnad mellan mjölkningssystem**

Det är väl känt att risken för lipolys och härsken smak i mjölk är högre när mjölkningsfrekvensen ökar och att det är högre förekomst i mjölk från automatiska än konventionella skötselsystem (Klei et al., 1997; Wiking et al., 2006; de Koning et al., 2004).

## **Sammanfattning av problemområdet samt mål med projektet**

Det har inte funnits något stort intresse internationellt för att studera orsaker till lipolys och härsken smak i mjölk eftersom man inte har upplevt något stort problem med detta i andra länder än Sverige. Det är ett större problem i Sverige än i många andra länder bland annat på grund av den förhållandevis höga konsumtionen av konsumtionsmjölk. Vid tiden för det här forskningsprojektets start hade problemet dock börjat uppmärksammas även i Danmark och Arla Foods som indikerade att nivåerna av fria fettsyror i mjölk var högst i besättningar med AMS och i besättningar med uppbundna kor. Nivåerna av fria fettsyror närmade sig i vissa fall gränsvärdet där många konsumenter kan uppfatta mjölken som härsken.

**Problem** – Mjölknings- och mjölkhantering kan orsaka lipolys och utfodringen kan ytterligare bidra till smakfelets uppkomst. Svenska mjölkkor har ett högt intag av oljepalmsprodukter som importeras och som produceras på ett sätt som kan ifrågasättas med avseende på miljöhänsyn.

**Projektets mål** – Att studera mekanismer som styr lipolys och att utveckla utfodringsstrategier som minskar risken för dess uppkomst med mål att eliminera problemen i besättningar som löper stor risk att få problem med lipolys.

**Hypotes** – Stearinsyra (C18:0) har mindre negativ inverkan på mjölkfettets stabilitet än palmitinsyra (C16:0) och kan minska de negativa konsekvenserna på mjölkfett vid mer frekvent mjölkning.

## Projektets genomförande

I den ursprungliga försöksplanen ingick att jämföra effekter av palmitinsyra och stearinsyra på mjölkfettet i studier på vomfistulerade kor. Detta modifierades sedan till att istället omfatta två utfodringsförsök.

### Försök 1: Effekt av ren palmitinsyra och stearinsyra på mjölkfettets sammansättning och risk för lipolys

Syftet med detta försök var att jämföra effekten av stearinsyra och palmitinsyra på mjölkfettets sammansättning. För att få så rena fettråvaror som möjligt användes metylestrar av palmitin- respektive stearinsyra med en renhet på minst 99%. Dessa levererades av Nanjing Xinxu Industry & Trade Co. Ltd. i Kina och blandades in i kraftfoder av Lantmännen. Inblandningen i kraftfodren var 10%, vilket är en hög andel. Kraftodergivorna anpassades till mjölkavkastningen och beräknades så att de var isoenergetiska, ensilage utfodrades *ad libitum*. Trettio kor av rasen svensk röd boskap fördelades på de tre behandlingarna; kontroll, palmitinsyra och stearinsyra. I varje grupp var hälften av korna förstakalvare och hälften äldre kor. För att undvika komplicerande interaktioner med effekt av mobilisering av kroppsfett under försöket utfördes det i mittlaktation, när korna var i positiv energibalans; dag i mjölk var  $152 \pm 28$ ,  $148 \pm 22$  och  $149 \pm 21$  för kontroll, palmitin och stearinsyrgruppen.

Korna mjölkades klockan 05.30 och 17.30. Foderkonsumtion registrerades dagligen under dag 6-30. Under dag 24-28 genomfördes en smältbarhetsstudie som baserades på foderprover och träckprover som togs från ändtarmen på korna at 08.30 och 16.00. Träckproverna lagrades i - 20°C fram till att de poolades och frystorkades (Scanvac Cool Safe 95/55-80, LaboGene ApS, Lyngø, Danmark). Foderprover togs dag 21, 25 och 28 och lagrades i - 20°C tills de analyserades. Både foder- och träckprover analyserades med avseende på torrs substans, råprotein, NDF, aska och saltsyreolöslig aska (AIA; Van Keulen & Young, 1977) för att möjliggöra smältbarhetsanalys.

Mjolkprover togs med TruTester teknik på kvällsmjölknigen dag 27, morgonmjölknigen dag 28 samt kvällsmjölknigen dag 29 och morgonmjölknigen dag 30 och förvarades i 4 °C innan de poolades för dygn 27/28 och 29/30 så att två representativa heldygnsprover skapades. Dessa analyserades med avseende på protein-, fett- och laktoshalt (MilkoScan FT120, Foss, Hillerød, Danmark), fria fettsyror (Deeth *et al.*, 1975) och mjölkfettets sammansättning. Dessutom analyserades storleken på fettglobulernas storlek i mjölken som samlades in dygn 29/30 enligt en metod beskriven av Wiking *et al.* (2003a).

Variansanalys utfördes med PROC GLM i mjukvaran SAS (SAS version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC USA).

**Resultat och diskussion:** Korna anpassade sig snabbt till försöksrutinerna och från dag fyra i försöket var det inga kraftfoderrester. Inga kor blev sjuka under försökets gång och alla prover togs utan problem. Varken ensilagekonsumtion, totalfoderstaternas smältbarhet, mjölmängd eller mjölkfetthalt skiljde mellan behandlingarna. Halten FFA var högre hos de kor som fått kraftfoder med fettillsats men skiljde inte signifikant mellan de två fettbehandlingarna (Tabell 1, sid 6) och det fanns en icke signifikant tendens till större fettglobuler i mjölken från de kor som fått fettillskott, vilket stämmer med litteratur.

Resultaten av mjölkfettets analyserna visade dock tyvärr att misstag hade begåtts i kraftfodertilldelningen och resultaten från detta försök är därför mycket osäkra. Databearbetningen är inte klar och kommer huvudsakligen att inriktas på jämförelser mellan den fettets sammansättning, FFA-halt och mjölkfettglobulstorlek som mjölkproverna hade, för publicering i livsmedelsvetenskaplig tidskrift.

En preliminär sammanställning av alla resultat utom mjölkfettsyror finns tillgängligt i form av ett examensarbete på masternivå som utfördes i projektet (Caroline Robertsson). Examensarbetet handledes av Horacio Gonda som vid tiden för studiens genomförande arbetade som gästforskare på institutionen för husdjurens utfodring och vård och deltog i detta projekt.

## Försök 2: Effekt av utfodring med rapsolja och palmolja i kombination med olika mjölkkningsfrekvens på mjölkfettets kvalitet

Försök 2 startade innan vi fått resultaten på mjölkfettsyraanalyserna i försök 1. Syftet med försök 2 var att undersöka om resultaten på FFA-halten och mjölkfettglobulerna som vi sett i Försök 1 skulle upprepas med kraftfoderblandningar där de olika fetträvarorna var rapsolja och palmolja, som är kommersiellt gångbara foderråvaror, istället för de rena metylestrarna av palmitinsyra och stearinsyra. Dessutom skulle försöket testa om de olika kraftfodren gav mjölk med olika tolerans för mer frekvent mjölkning. Hypoteserna var att: Försöket genomfördes på Nationellt centrum för lantbrukets djur, Uppsala – Lövsta under december 2013 och januari 2014 med 16 kor av rasen Svensk Röd Boskap och 14 Svensk Holstein som var i dag 142±46 i laktationen vid försökets början. Korna delades in i tre grupper med hänsyn till ras, laktationsnummer och avkastningsnivå. Behandlingarna var ett kontrollkraftfoder med så låg fetthalt som möjligt, ett kraftfoder med inblandning av 4% rapsolja och ett med inblandning av 4% palmolja. Kraftfodren tillverkades för försöket av Teknosan (Spannex Group). Försöket genomfördes i en stallavdelning med lösdrift med individuella kraftfodergivor samt automatisk registrering av grovfoderkonsumtion. Mjölkning skedde i en automatiserad karusell (AMR, DeLaval, Sweden) klockan 05 och 17 under försökets första fyra veckor, klockan 05, 11, 17 och 23 under fem dygn och sedan åter klockan 05 och 17 under försökets sista vecka för att testa effekten av mer frekvent mjölkning och återgång till mindre frekvent mjölkning.

Mjolkprover togs vid försökets början, efter tre veckor på försöksfoderstaterna, i slutet av perioden med mer frekvent mjölkning och i slutet av försöket när korna återgått till mindre frekvent mjölkning. Mjölkmängd och foderintag registrerades varje dag under försökets gång. Analyser av foder- och mjolkprover gjordes på samma sätt som i Försök 1 med undantag för att smältbarhetsundersökning inte ingick i försök 2 och att en mer detaljerad metod för analys av mjölkfettsyror användes i Försök 2. Detta möjliggjordes genom samarbete med Kevin Shingfield vid MTT i Finland som är världsledande inom analys av mjölkfettsyror och vi fick möjlighet att sätta upp hans metod vid Jana Pickovas lipidlab på SLU inom ramen för detta försök.

**Resultat och diskussion:** Genomförandet av försöket gick bra fram till två dagar innan sista provtagningen, då tog ett av försöksfodren slut och den sista provtagningen blev därför förstörd. Detta medförde minskad möjlighet att analysera effekten av olika mjölkkningsfrekvens, eftersom skillnader mellan vecka 3 och 4 kan bero på laktationsstadium och utan den sista provtagningen som kan korrigeras för detta gav försöket mindre säkra resultat. En examensarbetare, Sofia Lindman, deltog i försöket och i hennes arbete har dock data för de tre utfodringsbehandlingarna och den första perioden med mjölkning två gånger per dygn samt de fem dyggen med mjölkning fyra gånger per dygn har sammanställts. Statistisk bearbetning gjordes med MIXED MODEL i mjukvaran SAS (SAS version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC USA).

Analys av fettsyrasammansättningen i den palmolja och rapsolja som användes som råvaror vid framställningen av försökskraftfodren visade att de hade jämförbar nivå av oljesyra men att palmoljan hade betydligt högre halt palmitinsyra och rapsoljan högre halt av den fleromättade fettsyran linolsyra (C18:2). Skillnaderna i sammansättning var mindre i de färdiga kraftfodren.

Det var inga skillnader i mjölkmängd mellan de tre behandlingsgrupperna och mjölkmängden var drygt 20% högre ( $P < 0,001$ ) när korna mjölkades fyra gånger per dygn, den ökade från  $33,0 \pm 0,44$  kg/d to  $40,5 \pm 0,60$  kg/d (LSMEAN±SEM). Den grupp som utfodrades med palmoljekraftfodret hade lägre mjölkfetthalt än de andra två grupperna ( $4,32 \pm 0,07$  jämfört med  $4,51 \pm 0,08$  och  $4,55 \pm 0,08$  för kontroll och rapsolja,  $P < 0,001$ ). Det var inga skillnader mellan grupperna i halten fria fettsyror i mjölk eller i mjölkfettglobulernas storlek men halten fria fettsyror ökade med mer frekvent mjölkning ( $P < 0,001$ ).

De kor som fick kontrollbehandling hade som väntat högre halt av fettsyror  $\leq 14$  kolatomer medan de grupper som fick kraftfoder med palmolja och rapsolja hade högre halt av enkel- och fleromättade fettsyror och dessa var högst i den grupp som fått kraftfoder med rapsolja (Tabell 2, sid 7). Halten fleromättade fettsyror sjönk när korna mjölkades fyra gånger per dag vilket tydligt illustrerar att det är viktigt att tillföra dessa fettsyror i tillräcklig mängd i foderstaten.

**Försöket har körts om:** På grund av problemen med utfodringen har försöket körts om. Det gjordes i maj och juni 2014 och vi inväntar fortfarande resultat på mjölkfettsyrasammansättning. Analyserna är utförda men det ser ut att finnas ett systematiskt fel avseende de korta fettsyrorerna smörsyra (C4:0) och kapronsyra (C6:0), som är för låga i analysresultaten. Dessa är inte centrala för frågeställningen men eftersom mjölkfettsyror bestäms som andel av totala mängden fettsyror blir det felskattningar av andra fettsyror om dessa två är för låga. Vi arbetar nu med att ta reda på vad som orsakat de låga halterna smörsyra (C4:0) och kapronsyra (C6:0). Då detta försök utgör en central del av Sabine Ferneborgs avhandlingsarbete är det mycket viktigt för oss att sammanställa resultaten för en vetenskaplig publikation. Sabine Ferneborgs disputation är planerad till september 2015 och vi kommer därför arbeta intensivt med fettsyraanalyserna under första månaderna 2015.

## Slutsatser

Resultaten från den här studien visar att:

- Rapsolja kan ersätta palmolja i kraftfodermedel till mjölkande kor utan att mjölmängd, mjölkfetthalt eller risken för härsken smak i mjölken ändras.
- Risken för härsken smak blir inte högre vid mer frekvent mjölkning om man ersätter palmolja med rapsolja.

## Referenser

- Bauman, D. E. och Griinari, J. M. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*. 70 (1-2): 15-29
- Butler, G., Nielsen J.H., Slots, T., Seal, C., Eyre, M. D., Sanderson R. och Leifert, L. 2008. Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *J. Sci. Food Agric*. 88: 1431-1441.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J. och Lamberet, G. 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci*. 86:1751-1770. Review.
- de Koning, K., Slaghuis B., & van der Vorst, Y. 2003. Robotic milking and milk quality: effects on bacterial counts, somatic cell counts, freezing point and free fatty acids. *Ital. J. Anim. Sci*. 2:291-299.
- Deeth, H. C., Fitz-Gerald, C. H., & Wood, A. F. 1975. A convenient method for determining the extent of lipolysis in milk. *Australian Journal of Dairy Technology*. 30: 109–111.
- Ellis, K. A., Innocent, G., Grove-White, D., Cripps, P., McLean, W.G., Howard, C.V. och Mihm, M. 2006. Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Sci.*, 89:1938-1950.
- Fall, N. och Emanuelson, U. 2010. Fatty acid content, vitamins and selenium in bulk tank milk from organic and conventional dairy herds in Sweden. *Journal of Dairy* 78(3): 287-292
- Hedegaard, R.V., Kristensen, D., Nielsen, J.H., Frøst, M.B., Ostdal, H., Hermansen, J.E., Kröger-Ohlsen, M. och Skibsted, L. H. 2006. Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk. *J. Dairy Sci*. 89:495-504.
- Jahreis, G., Fritsche, J. och Steihart, H. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. *Nutr. Res*. 17: 1479-1484.
- Klei, L. R., Lynch, J.M., Barbano, D.M., Oltenacu, P.A., Lednor, A.J., och Bandle, D.K. 1997. Influence of milking three times a day on milk quality. *J. Dairy Sci*. 80: 427-36.
- Lindberg, E., Andersson, I., Lundén, A., Nielsen, J.H., Everitt, B., Bertilsson, J. och Gustafsson, A. H. 2004. Orsaker till avvikande lukt och smak i leverantörmjolk. Rapport nr. 7028-P, SLF proj. nr. 0230023.
- Slots, T., Butler, G., Leifert, C., Kristensen, T., Skibsted, L. H. och Nielsenm J. H. 2009. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. *J. Dairy Sci*. 92: 2057-2066.
- Van Keulen, J., Young, B.A. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in Wiking, L & M.
- Wiking, L., Bertram, H.C., Björck, L. och Nielsen, J. H. 2005. Evaluation of cooling strategies for pumping of milk – impact of fatty acid composition on free fatty acid levels. *J. Dairy Res*. 72: 476-481.
- Wiking, L., Nielsen, J. H., Båvius, A. K., Edvardsson, A. och Svennersten-Sjaunja, K. 2006. Impact of milking frequencies on the level of free fatty acids in milk, fat globule size, and fatty acid composition. *J. Dairy Sci*. 89:1004-1009.

Tabell 1. Fria fettsyror i mjölk (FFA) och mjölkfettglobulernas (MFG) storlek hos kor som utfodrats med kraftfoder med låg fetthalt (Control), 10% metylester av palmitinsyra (Palmitate) eller 10% metylester av stearinsyra (Stearate). Least squares means och standard error of means (SEM). P-värden avser effekt av behandling (Treat), laktationsnummer (Parity) och interaktionen mellan behandling och laktationsnummer (TreatxParity).

Item	Parity <sup>1</sup>	Treatment			SEM <sup>2</sup>	P=		
		Control	Palmitate	Stearate		Treat	Parity	Treat*Parity
<b>Free FA</b>								
μ equiv./ml	1	0.126 <sup>b</sup>	0.153 <sup>ab</sup>	0.193 <sup>a</sup>	0.013	0.016		
	≥ 2	0.120	0.156	0.148	0.012	0.147		
	All cows	0.123 <sup>b</sup>	0.155 <sup>a</sup>	0.171 <sup>a</sup>	0.010	0.005	0.144	0.175
μ equiv./g of milk fat	1	29.72	34.43	43.60	4.111	0.091		
	≥ 2	31.33	35.90	33.53	2.313	0.539		
	All cows	30.53	35.16	38.57	2.496	0.094	0.428	0.186
<b>Milk fat globule size (μm)</b>								
	1	4.05	4.32	4.51	0.157	0.206		
	≥ 2	4.01	4.45	4.19	0.138	0.118		
	All cows	4.03	4.39	4.35	0.110	0.059	0.549	0.377

<sup>1</sup> Parity: 1, n= 5; ≥ 2, n= 5; all cows, n= 10.

<sup>2</sup> SEM: standard error of the mean.

<sup>a,b</sup> Means in the same row with different superscripts differ at  $P < 0.05$  (treatment effect).

Tabell 2. Mjölakens fettsyrasammansättning hos kor som utfodrats med tre olika kraftfodermedel och mjölkats två och fyra gånger per dag. Värderna anges som 'least squares means' och 'standard error of means' (SEM). N=10 kor per kraftfoderbehandling.

Item	MF <sup>2</sup>	Kraftfoderbehandling <sup>1</sup>						P-värde för F-test		
		C	SEM	P	SEM	R	SEM	Diet	MF	Diet*MF
<b>Grupper av fettsyror</b>										
≤C14	2x	31,21	0,586	28,52	0,587	26,69	0,588	<0,0001	0,351	0,690
	4x	30,65	0,587	27,62	0,586	26,79	0,590			
Korta fettsyror	2x	75,65	0,883	71,02	0,884	66,59	0,886	<0,0001	0,576	0,484
	4x	76,16	0,883	70,31	0,883	68,00	0,889			
Enkelomättade fettsyror	2x	24,73	0,759	29,42	0,759	32,68	0,761	<0,0001	0,688	0,712
	4x	24,57	0,759	29,74	0,759	31,76	0,764			
Fleromättade fettsyror	2x	2,59	0,099	2,73	0,099	2,90	0,099	0,0094	0,047	0,960
	4x	2,40	0,099	2,60	0,099	2,72	0,100			
<b>Enskilda fettsyror</b>										
C4:0	2x	3,82	0,130	3,73	0,125	3,70	0,134	0,712	0,007	0,951
	4x	4,08	0,129	4,00	0,124	4,03	0,134			
C6:0	2x	2,54	0,070	2,33	0,070	2,20	0,070	0,0002	0,097	0,909
	4x	2,62	0,070	2,41	0,070	2,33	0,070			
C8:0	2x	1,59	0,044	1,42	0,044	1,30	0,044	<0,0001	0,266	0,792
	4x	1,54	0,044	1,35	0,044	1,29	0,044			
C10:0	2x	3,83	0,126	3,27	0,126	2,96	0,126	<0,0001	0,215	0,794
	4x	3,66	0,126	3,09	0,126	2,93	0,126			
C12:0	2x	4,72	0,135	4,17	0,135	3,69	0,136	<0,0001	0,0081	0,760
	4x	4,38	0,135	3,78	0,135	3,50	0,136			
C14:0	2x	14,14	0,307	13,04	0,307	12,34	0,308	<0,0001	0,471	0,796
	4x	13,96	0,307	12,65	0,307	12,36	0,309			
C15:0	2x	1,03	0,042	0,87	0,038	0,84	0,044	<0,0001	0,983	0,964
	4x	1,02	0,041	0,88	0,037	0,83	0,044			
C16:0	2x	33,11	0,685	29,63	0,632	25,53	0,722	<0,0001	0,858	0,477
	4x	33,57	0,678	28,88	0,626	26,10	0,715			
C16:1 cis9	2x	1,09	0,108	1,18	0,108	1,01	0,108	0,373	0,760	0,857
	4x	1,13	0,108	1,10	0,108	0,98	0,109			
C17:0 (+some C16:1	2x	0,51	0,020	0,43	0,019	0,40	0,022	<0,0001	0,687	0,876
	4x	0,50	0,020	0,43	0,019	0,40	0,021			
C18:0	2x	9,59	0,449	11,11	0,428	12,88	0,465	<0,0001	0,048	0,885
	4x	10,07	0,446	11,99	0,426	13,58	0,463			
C18:1 (n-9)	2x	19,09	0,639	23,40	0,640	25,58	0,641	<0,0001	0,501	0,834
	4x	18,87	0,640	23,34	0,639	24,79	0,643			
C18:2 (n-6)	2x	1,55	0,083	1,49	0,083	1,44	0,083	0,773	0,139	0,864
	4x	1,39	0,083	1,40	0,083	1,38	0,083			
C18:2 cis9trans11 (CLA)	2x	0,44	0,035	0,55	0,036	0,68	0,036	<0,0001	0,073	0,972
	4x	0,38	0,036	0,50	0,035	0,63	0,036			
C18:3 (n-6)	2x	0,083	0,011	0,119	0,010	0,131	0,012	0,002	0,006	0,249
	4x	0,072	0,011	0,102	0,010	0,089	0,012			

<sup>1</sup> Kraftfoder utan tillsats av fett (K), 4% tillsats av palmolja (P) eller rapsolja (R).

<sup>2</sup> Mjölkningsfrekvens (2x=två gånger per dag och 4x=fyra gånger per dag)