

## ”EFFEKTER AV MJÖLKENS PROTEINSAMMANSÄTTNING PÅ KVALITET OCH UTBYTE AV MEJERIPRODUKTER”

### Bakgrund

#### *Funktionsgenomik för förbättrad mjölk kvalitet*

Många av mjölkens kvalitetsegenskaper styrs sannolikt av ett fåtal gener. I flera fall känner vi dessa eller har en god uppfattning om vilka gener det rör sig om, s. k. kandidatgener. En förbättrad mjölk kvalitet kan innebära att identifiera de DNA-segment som styr mängden genprodukt eller nukleotids substitutioner som avgör det uttryckta proteinets struktur och därmed dess kemiska och fysikaliska egenskaper.

Nuvarande avelsarbete baseras på resultat från presumtiva avelstjurars dottergrupper vilket innebär att man begränsas till att avla för egenskaper som är möjliga att mäta i stor skala, t. ex. mjölkens fett- och proteinhalt. Till följd av bristen på lämpliga analysmetoder avseende övriga mjölk kvalitetsparametrar, som exempelvis koagulerings egenskaper, har hittills inget avelsarbete bedrivits för dessa.

#### *Sjunkande halter av fett och protein – hur påverkas mjölk kvaliteten?*

Huvuddelen av den mjölk som produceras i Sverige används som dryckesmjölk, men denna andel har minskat till förmån för mer förädlade produkter som ost- och filprodukter. Lönsamheten inom mejeriindustrin är därför i ökande grad beroende av att halterna protein och fett i mjölken är höga. Mejeriernas prissättningspolitik före 1995 vad gäller mjölk råvaran speglade dock inte dess ekonomiska värde ur vidareförädlings synpunkt utan drev snarare fram ökade mjölk volymer per ko och laktation. De bakomliggande orsakerna var bl. a. en omfattande import av avelsmaterial från länder där avelsmålet varit ökad mjölk avkastning, vilket gäller särskilt för SLB-rasen, samt att djurägarna valde tjurar utifrån lönsamhets aspekter, d. v. s. anpassade sig till då rådande betalningssystem för leverantörsmjölk.

De stadigt sjunkande halterna uppmärksammades av mejeriindustrin, som därför uttalade önskemålet att de sjunkande trenderna borde brytas. Detta tillmötesgicks genom att man i det nya avelsmålet beslutade lägga en negativ vikt på mjölk mängd och positiva vikter på protein- och fettmängd. Härigenom har en viss ökning av proteinhalten och fetthalten erhållits sedan 2001. Frågan är dock hur sammansättningen av mjölkens proteinfraktion ser ut – finns det en möjlighet att förbättra den, och därmed process- och produkt kvalitet, genom att selektera för vissa genetiska mjölk protein varianter? Denna frågeställning har vi jobbat med i detta projekt.

#### *Proteiner i vassle – ett mått på produktions förluster vid ystning*

Som nämnts tidigare utnyttjas en allt större andel av mjölken för framställning av ost- och filprodukter. För dessa mejeriprodukter är proteinet den komponent i mjölken som är av störst betydelse, särskilt kaseinet eftersom det utgör grundstommen i det koagel som ger den karaktäristiska strukturen åt dessa produkter. Mjölk innehåller två huvudgrupper av

protein, kasein (ca 80%) och vassleprotein (ca 20%), vilka förekommer i olika ärftliga varianter (Tabell 1).

**Tabell 1.** Ungefärligt innehåll av protein i komjölk samt påvisade genetiska varianter av dessa hos svenska kor

Protein	Koncentration (g/L)	Genetisk variant
Totalt	35	
Kaseiner	28	
$\alpha_{s1}$ -kasein	11	B, C
$\alpha_{s2}$ -kasein	3	A
$\beta$ -kasein	10	A <sup>1</sup> , A <sup>2</sup> , A <sup>3</sup> , B
$\kappa$ -kasein	4	A, B, E
Vassleproteiner	7	
$\alpha$ -laktalbumin	1.5	B
$\beta$ -laktoglobulin	4	A, B
Serumalbumin	0.5	A
Immunoglobuliner	1	-

Kaseinet delas upp i fyra huvudtyper:  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - och  $\kappa$ -kasein, vilka bildar s. k. kaseinmiceller. Det mjölkprotein som under ystningsprocessen inte binds i koaglet (ostmassan) förloras till vasslen. Denna proteinfraktion består huvudsakligen av s. k. vassleproteiner, främst  $\beta$ -laktoglobulin och  $\alpha$ -laktalbumin, men även en mindre andel kaseiner. Ur ekonomisk synvinkel är vasslefraktionens fett och proteiner, och då främst kaseinerna, att betrakta som rena förluster. Av stor betydelse för dessa förluster är mjölkens koaguleringsförmåga, vilken visar starka samband med den genetiskt betingade proteinsammansättningen.

Vid tillverkning av fermenterade produkter utnyttjas istället den värmeinducerade aggregationen mellan vassleproteinerna (främst  $\beta$ -laktoglobulin) och kaseinmicellerna (främst  $\kappa$ -kasein) för att förbättra konsistensen samt att öka den vattenhållande förmågan. Aggregationen mellan kaseinmicellerna och vassleproteinerna är även den starkt påverkad av de genetiska proteinvarianterna.

Projektet har i fyra delstudier undersökt proteinsammansättning och koaguleringsförmåga i mjölk från kor med kända varianter av  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein och  $\beta$ -laktoglobulin:

- 1) Chymosininducerad koagulering ("ystmjölk") och koppling med genetiska varianter av mjölkproteiner
- 2) Detaljerad proteinsammansättning i mjölk och koppling med genetiska varianter av mjölkproteiner
- 3) Syrainducerad koagulering av värmebehandlad mjölk ("filmjölk") och koppling med genetiska varianter av mjölkproteiner samt mjölkens proteinsammansättning
- 4) Protein förluster i vassle vid chymosininducerad koagulering ("ystning") och koppling med genetiska varianter av mjölkproteiner samt mjölkens proteinsammansättning

## Material & metoder

### *Mjölksprover*

Till de fyra delstudierna samlades individuella morgonmjölksprover in från kor av SRB- och SLB-ras i besättningen på Jälla försöksgård (SLU, Uppsala) under tidsperioden maj 2003 till november 2005. SRB-korna var uppdelade på två selektionslinjer; en för hög (SRB H) och en för låg (SRB L) fetthalt i mjölken. Kor som ingick i studierna befann sig i mitten av laktationen (v. 9 - 35) och de var friska med ett celltal i mjölken lägre än 300,000. Bronopol (2  $\mu\text{L}/\text{mL}$  av en 17%-lösning, vikt/vol) tillsattes som konserveringsmedel direkt vid provtagningen och alla försök utfördes på avfettad mjölk. Proverna analyserades för totalproteinhalt, fetthalt och laktoshalt med IR (MilkoScan FT120, A/S Foss Electric, Hillerød, Danmark) och celltal med flödescytometri (Fossomatic 5200, A/S Foss Electric) vid Inst. f. Husdjurens utfodring och vård (SLU, Uppsala). Koaguleringsanalyser utfördes på färsk mjölk, medan proteinsammansättningen analyserades i prover som förvarats vid  $-80^{\circ}\text{C}$ . Mjölkkavkastning vid provtagningstillfället, laktationsnummer, laktationsvecka och provtagningsvecka registrerades även.

### *Bestämning av mjölkproteinvarianter*

DNA preparerades från blod och genotypades för variant av  $\beta$ -kasein och  $\kappa$ -kasein med Pyrosequencing (Biotage AB, Uppsala), en PCR-baserad metod som bygger på realtidsekvensering. Variant av  $\beta$ -laktoglobulin bestämdes via FPLC (fast protein liquid chromatography) av vassle preparerad från varje mjölkprov, denna analys verifierades genom att ett antal prover även genotypades för  $\beta$ -laktoglobulin.

### *Chymosin*

Kromatografiskt rent chymosin användes med en styrka på 174,000 IMCU (international milk clotting units) användes. Arbetslösningar bereddades i 0.1 M fosfatbuffer (pH 5.7); 0.4 mg/mL till Delstudie 1 och 1.5 mg/mL till Delstudie 4.

### *Reologiska mätningar*

Mjölakens koaguleringssegenskaper analyserades i Delstudie 1 och 3 med en Bohlin VOR Reometer (Malvern Instruments Nordic AB, Uppsala). ”Cup and bob”-mätsystem C25 användes med en 2 g\*cm torsionsstav och mängden prov var 12 mL. Oscillation med en frekvens av 1 Hz och 0.0412 konstant deformation applicerades vid en temperatur på  $30^{\circ}\text{C}$ . Koaguleringsförloppet följdes från tillsats av koagulant ( $t_0$ ) under en viss tid och elasticitetsmodulen ( $G'$ ), här kallad koagelstyrkan, plottades mot tiden. Koaguleringstiden (CT) registrerades som tiden från  $t_0$  till dess en ökning i  $G'$  detekterades av instrumentet och värdet på  $G'$  avlästes vid vissa tider ( $t_x$ ).

### *Analys av proteinsammansättning*

Koncentrationer av de sex vanligaste mjölkproteinerna ( $\alpha_{s1}$ -kasein,  $\alpha_{s2}$ -kasein,  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein,  $\beta$ -laktoglobulin och  $\alpha$ -laktalbumin) analyserades i Delstudie 2, 3 och 4 med RP-HPLC (reversed phase high performance liquid chromatography) enligt en metod modifierad efter Bordin *et al.* (2001). Det kromatografiska systemet D-7000 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Tyskland) användes med pump L-7100, autoinjektor L-7200, UV-

detektor L-7400 och mjukvaran HPLC System Manager (HSM v. 4.0). Buffert A bestod av vatten, acetonitril, TFA (trifluorättiksyra) i förhållandet 900:100:1 (vol/vol/vol) och buffert B av samma komponenter 100:900:1. Proteinerna separerades vid rumstemperatur och flödes hastighet 0.300 mL/min på en BioBasic C<sub>4</sub>-kolonn (Thermo Electron Corp., Runcorn, UK) med 150 x 3 mm I.D., 300 Å porstorlek och 5 µm partikelstorlek. Proteinstandarder köptes från Sigma-Aldrich (Steinheim, Tyskland) och användes för toppidentifiering och bestämning av absorptionskoefficienter för varje protein. Den eluerande gradienten var 26 till 36% buffert B på 10 min, isokratiskt vid 36% B under 10 min, från 36 till 43% B på 13 min, isokratiskt vid 43% B under 6 min, från 43 till 50% B på 11 min, isokratiskt vid 50% B under 10 min, från 50 till 26% B på 1 min och slutligen 14 min ekvibrering av kolonnen vid 26% B. En kromatografisk körning tog totalt 75 minuter och mjölk-/vassleprover preparerades dagligen tio stycken i taget. De späddes 1:5 i en reducerande buffert (8 M urea, 20 mM ditiotreitoll) och fick stå en timme i rumstemperatur innan de späddes ytterligare 1:3 i buffert A innehållande 6 M urea. Injektionsvolym var 20 µL för mjölkprover och 40 µL för vassleprover.

### *Statistiska analyser*

I alla delstudier gjordes statistiska beräkningar med General Linear Model (GLM) i den statistiska mjukvaran SAS (SAS Institute Inc., Cary, USA). Värderna för celltal, CT och G' logaritmerades för att få normalfördelade data. Korna grupperades efter ras och selektionslinje; SRB H, SRB L och SLB. Laktationsnummer delades in i fyra klasser; första laktationen, andra laktationen, tredje laktationen och fler än tre laktationer.

Då kaseingenerna bildar ett komplex på kromosom 6 är de nära länkade med varandra och allelerna av de olika kaseinerna befinner sig i linkage disequilibrium. Detta innebär att allelerna vid dessa loci inte kan antas segregera oberoende av varandra; varje allel vid  $\kappa$ -kaseinloкус kommer inte att uttryckas mot alla tillgängliga  $\beta$ -kaseinvarianter och vice versa. Följaktligen har vi beaktat den sammansatta  $\beta$ -kasein/ $\kappa$ -kasein genotypen i våra studier. Om interaktionen  $\beta$ -kasein\* $\kappa$ -kasein inte fanns signifikant (Delstudie 1) ansåg vi att de obalanserade genotypkombinationerna ändå rättfärdigade ett statistiskt tillvägagångssätt som tar hänsyn till detta. Så även där variationen vid  $\beta$ -kaseinloкус inte var statistiskt signifikant jämfördes de olika  $\kappa$ -kaseinvarianterna mot en gemensam bakgrund av  $\beta$ -kaseinvarianter, och vice versa. Genotypgrupper bestående av mindre än tre kor inkluderades ej i analyserna.

### *Delstudie 1*

Ystmjölkskvalitet. 121 mjölkprover (42 SRB H, 33 SRB L, 46 SLB) å 12 mL förvärmades vid 30°C i 30 min, chymosin (100 µL, 0.4mg/mL) tillsattes och reologiska egenskaper mättes under 30 minuter. CT och G' vid  $t_{25min}$  registrerades och kopplingar till genetiska varianter av  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein och  $\beta$ -laktoglobulin studerades.

### *Delstudie 2*

Proteinsammansättningen analyserades med RP-HPLC i 116 mjölkprover (39 SRB H, 35 SRB L, 42 SLB) och allel- och genotypfrekvenser av  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein och  $\beta$ -laktoglobulin studerades. Inverkan av genetiska varianter av  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein och  $\beta$ -laktoglobulin på proteinsammansättningen samt på det allelspecifika proteinuttrycket analyserades.

### Delstudie 3

Modellstudie av filmjölkskvalitet. 80 mjölkprover (30 SRB H, 18 SRB L, 32 SLB) à 12 mL värmebehandlades (90-95°C, 5 min) och 1.5% GDL (glukono- $\delta$ -laktos) tillsattes för att efterlikna den gradvis pH-sänkande effekten av en bakteriekultur. Reologiska egenskaper mättes under 10 h där CT samt  $G'$  vid  $t_{4h}$ ,  $t_{8h}$  och  $t_{10h}$  registrerades. Mjölks proteinsammansättning analyserades med RP-HPLC. Den syrainducerade koaguleringen och kopplingar till genetiska varianter av  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein och  $\beta$ -laktoglobulin samt till mjölks proteinsammansättning studerades.

### Delstudie 4

Modellstudie av ystningsprocessen. 110 mjölkprover (37 SRB H, 33 SRB L, 40 SLB) à 10 mL förvärmades i vattenbad med skak vid 30°C i 1 h. Chymosin (25  $\mu$ L, 1.5 mg/mL) tillsattes och proverna fick koagulera under 30 min. Koaglet skars sedan och efter ytterligare 30 min inkubation, för att ge tid till syneres, togs proverna upp ur vattenbadet. Pressning av koaglet simulerades m. h. a. centrifugering (1258\*g, 25 min, rumstemp). Vasslen hällades av och vägdes. Prover av mjölk och vassle togs ut för analys av proteinsammansättningen med RP-HPLC. Vasslens proteinsammansättning och kopplingar till genetiska varianter av  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein och  $\beta$ -laktoglobulin samt till mjölks proteinsammansättning studerades.

## Resultat

**Tabell 2.** Genotypfrekvenser av  $\beta$ -laktoglobulin,  $\kappa$ -kasein,  $\beta$ -kasein samt den sammansatta kaseinogenotypen för kor som ingick i de fyra delstudierna

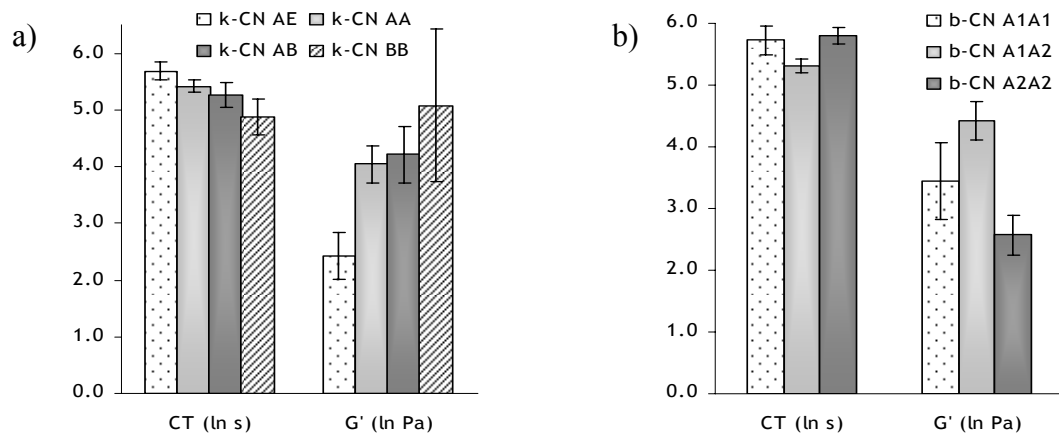
	SRB H <sup>a</sup> (n=53)	SRB L <sup>b</sup> (n=43)	SLB (n=66)		SRB H (n=53)	SRB L (n=43)	SLB (n=66)
$\beta$ -LG AA	0.13	0.21	0.11	Sammansatt $\beta$ -/ $\kappa$ -kaseinogenotyp			
$\beta$ -LG AB	0.42	0.53	0.50	A1A1/AA	0.06	0.09	0.05
$\beta$ -LG BB	0.45	0.26	0.39	A1A2/AA	0.25	0.12	0.27
				A2A2/AA	0.11	0.14	0.27
$\kappa$ -CN AA	0.43	0.37	0.59	A2B/AA	0.02	0.02	0
$\kappa$ -CN AB	0.21	0.40	0.26	A1A1/AB	0.04	0	0.03
$\kappa$ -CN AE	0.34	0.16	0.12	A1A2/AB	0.09	0.16	0.05
$\kappa$ -CN BB	0.02	0.05	0.02	A1B/AB	0	0	0.02
$\kappa$ -CN BE	0	0.02	0	A2A2/AB	0.06	0.23	0.09
$\kappa$ -CN EE	0	0	0.02	A2B/AB	0.02	0	0.08
				A1A1/AE	0.11	0.05	0.05
$\beta$ -CN A1A1	0.21	0.14	0.14	A1A2/AE	0.23	0.09	0.06
$\beta$ -CN A1A2	0.57	0.40	0.38	A2A2/AE	0	0.02	0.02
$\beta$ -CN A1B	0	0	0.02	A2A2/BB	0.02	0.05	0.02
$\beta$ -CN A2A2	0.19	0.44	0.39	A1A2/BE	0	0.02	0
$\beta$ -CN A2B	0.04	0.02	0.08	A1A1/EE	0	0	0.02

<sup>a</sup>Kor från en selektionslinje för hög fetthalt i mjölken

<sup>b</sup>Kor från en selektionslinje för låg fetthalt i mjölken

### Delstudie 1

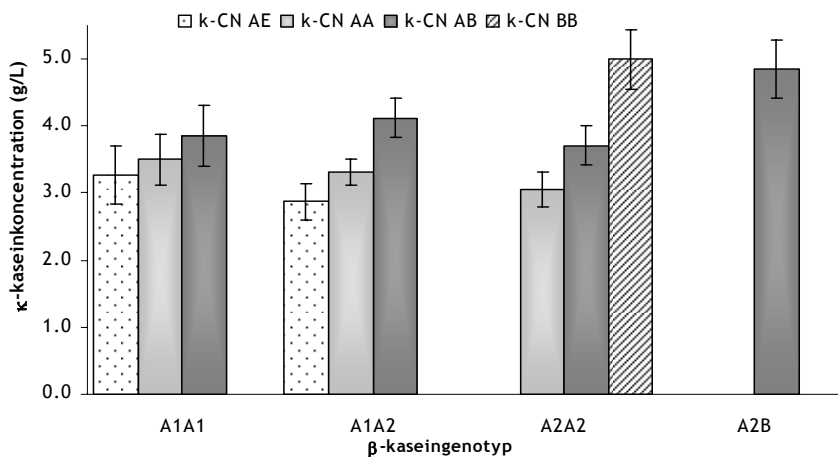
Vid chymosininducerad koagulering var B-allelen av  $\kappa$ -kasein associerad med förbättrade koaguleringsegenskaper i mjölk (kortare CT, högre värden på  $G'$ ), medan en negativ effekt av E-allelen kunde noteras (Fig. 1a). Mjölk med A<sup>2</sup>A<sup>2</sup>-genotypen av  $\beta$ -kasein visade sämre koagulering jämfört med A<sup>1</sup>A<sup>2</sup> (Fig 1b;  $P < 0.01$ ). Totalproteinhalten var positivt associerad till  $G'$  ( $P < 0.05$ ), men visade ingen effekt på CT.



**Figur 1.** LS Means ( $\pm$  standard error) för effekt av a)  $\kappa$ -kaseingenotyp, b)  $\beta$ -kaseingenotyp på chymosininducerad koagulering av individuella mjölkprover  
CT = koaguleringsstid; G' = koagelstyrka 25 min efter chymosintillsats

### Delstudie 2

Den sammansatta  $\beta$ -/ $\kappa$ -kaseingenotypen påverkade koncentrationen  $\kappa$ -kasein i mjölk, men ingen effekt hittades på övriga proteinhalter. Den lägsta koncentrationen  $\kappa$ -kasein fanns i mjölk från kor med de två sammansatta genotyperna som inkluderade E-allelen ( $A^1A^2/AE$  och  $A^1A^1/AE$ ) samt  $A^2A^2/AA$ -mjölk, medan de högsta koncentrationerna fanns i de fem genotyper som inkluderade B-allelen (Fig. 2).



**Figur 2.** LS Means ( $\pm$  standard error) för effekt av sammansatt  $\beta$ -/ $\kappa$ -kaseingenotyp på koncentration av  $\kappa$ -kasein ( $P < 0.001$ ) i morgonmjölksprover från individuella kor (n=110)

Genotyp av  $\beta$ -laktoglobulin påverkade  $\beta$ -laktoglobulinkoncentrationen och kaseintalet (andel kasein av totalprotein). Mjölk från kor med  $\beta$ -laktoglobulin BB var associerad med en lägre koncentration  $\beta$ -laktoglobulin och ett högre kaseintal jämfört med AA- and AB-genotyperna (Tabell 3). En liknande trend observerades även för totalprotein ( $P < 0.1$ ). Vid respektive loci för  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein och  $\beta$ -laktoglobulin uttrycktes  $A^2$ -, B- och A-allelerna högre i mjölk än andra alleler vid dessa loci.

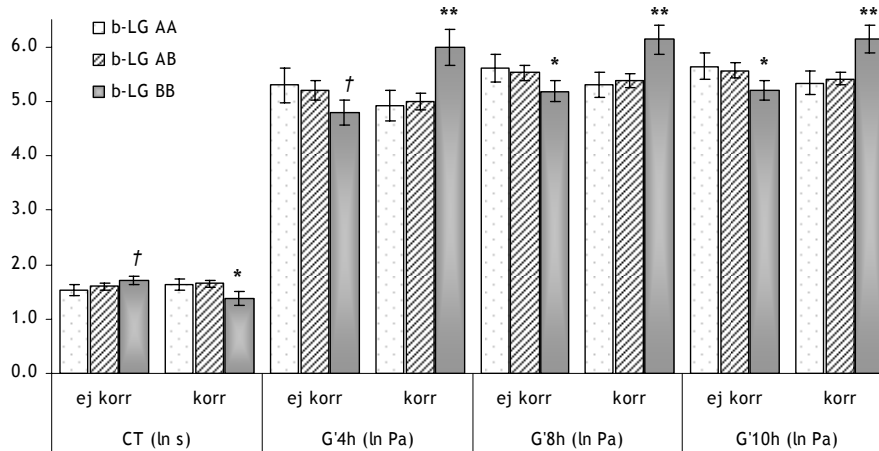
**Tabell 3.** LS Means ( $\pm$  standard error) för effekt av  $\beta$ -laktoglobulingenotyp på proteinsammansättningen i morgonmjölkprover från individuella kor

	$\beta$ -laktoglobulingenotyp			P
	AA (n=19)	AB (n=61)	BB (n=36)	
Totalprotein, g/L	32.59 $\pm$ 0.94	32.43 $\pm$ 0.78	31.01 $\pm$ 0.80	†
$\beta$ -laktoglobulin, g/L	6.10 $\pm$ 0.25	5.77 $\pm$ 0.21	3.51 $\pm$ 0.21	***
Kaseintal <sup>a</sup>	0.785 $\pm$ 0.008	0.792 $\pm$ 0.006	0.856 $\pm$ 0.006	***

<sup>a</sup>Kasein/totalprotein; †P  $\leq$  0.1; \*\*\*P < 0.001

### Delstudie 3

Vid syrainducerad koagulering visade sig koncentrationen vassleprotein vara av stor vikt för koagelstyrkan G'. Dessutom påverkade genotyp av  $\beta$ -laktoglobulin både G' och CT. Utan korrigering för vassleproteinkoncentrationen i den statistiska modellen var mjölk från kor med AA- och AB-genotyperna associerade med kortare koagulerings tid och fastare koagel jämfört med BB. Däremot, efter korrigering så visade sig istället BB-genotypen ge bättre värden för båda dessa egenskaper (Fig. 3). Kaseingenotyp visade ingen effekt.



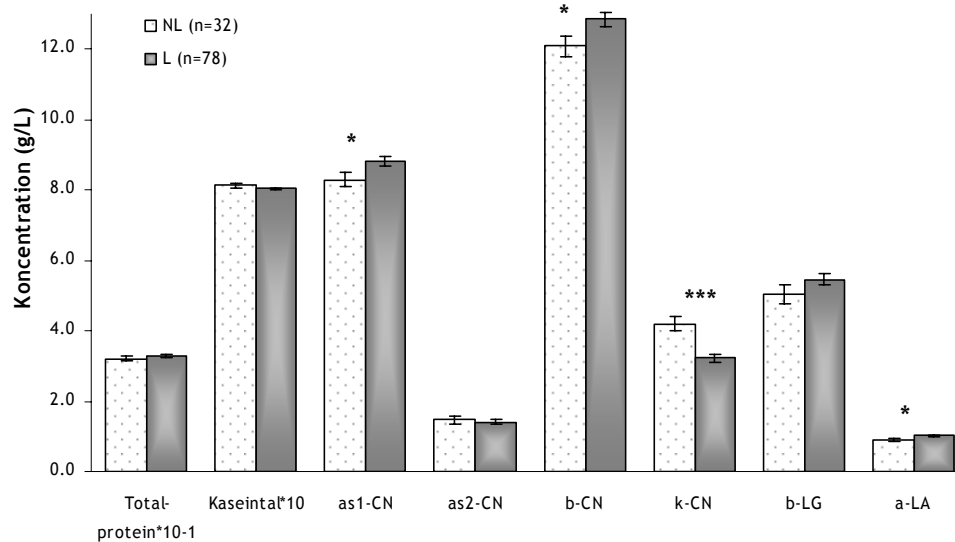
**Figur 3.** Effekt av  $\beta$ -laktoglobulingenotyp på syrainducerad koagulering av individuella mjölkprover före (ej korr) respektive efter (korr) korrigering för mjölkens vassleproteinkoncentration  
CT = koagulerings tid; G'xh = koagelstyrka x timmar efter syratillsats; † P < 0.1; \* P < 0.05; \*\* P < 0.01

Positiv effekt av totalproteinhalt samt koncentrationer av  $\alpha_{s1}$ -kasein,  $\beta$ -kasein,  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin och laktos observerades även ( $\beta$ -kasein enbart effekt på G'). Av de analyserade proteinerna hade  $\beta$ -laktoglobulin och  $\alpha$ -laktalbumin störst effekt, medan koncentrationer av  $\alpha_{s2}$ -kasein och  $\kappa$ -kasein inte påverkade koaguleringen. Dock fanns indikationer på att en hög andel  $\kappa$ -kasein av totalprotein resulterade i längre CT (P < 0.1), medan en hög andel  $\alpha_{s1}$ -kasein förkortade CT (P < 0.05).

### Delstudie 4

Förlusterna av protein till vasslen var tydligt kopplad till mjölkens proteinsammansättning (Fig. 4). Prover med lite eller inget kasein i vasslen efter ystningsprocessen innehöll en högre koncentration av  $\kappa$ -kasein. Prover med större kaseinförluster var tvärtom associerade med lägre  $\kappa$ -kaseinkoncentrationer, men högre

koncentrationer av  $\alpha_{s1}$ -kasein,  $\beta$ -kasein och  $\alpha$ -laktalbumin.



**Figur 4.** Jämförelse av mjölkproteinsammansättningen i två grupper av individuella mjölkprover; Mjolk som gav stora förluster av kasein i vasslen (L) och mjolk som gav små eller inga förluster av kasein i vasslen (NL), vid chymosininducerad koagulering  
Kaseintal = kasein/totalprotein; \* $P < 0.05$ ; \*\*\* $P < 0.001$

Mängden vassle var negativt associerad med totalproteinhalt, kaseintal samt koncentrationer av individuella kaseiner i mjölken. Andelen  $\alpha$ -laktalbumin av totalprotein i mjolk var däremot associerad med en större vasslemängd.

Effekt av  $\beta$ -/ $\kappa$ -kaseingenotyp kunde associeras med kaseinförlusterna i vassle via den inverkan på mjölkens proteinsammansättning som påvisades i Delstudie 2.

## Diskussion

Resultaten i Delstudie 2 visar att oberoende av  $\beta$ -kaseingenotyp så är B-allelen av  $\kappa$ -kasein associerad med ökande koncentration  $\kappa$ -kasein i mjolk, medan E-allelen har en negativ effekt (Fig. 2). Relativt få har studerat E-allelen relaterat till proteinsammansättningen, men en negativ effekt har påvisats åtminstone jämfört med B (Ikonen *et al.* 1997). Den positiva effekten av  $\kappa$ -kasein B är mer dokumenterad. Proteinsammansättningen påverkades också av  $\beta$ -laktoglobulingenotyp (Tabell 3). En lägre koncentration  $\beta$ -laktoglobulin och ett högre kaseintal fanns i mjolk från kor med BB-genotypen jämfört med AA och AB. Detta stöds av resultaten i ett flertal studier (t. ex. Lundén *et al.* 1997). Om man kopplar Delstudie 2 med resultaten i Delstudie 1 (Fig. 1a & 1b), så framstår det tydligt att den positiva effekten av  $\kappa$ -kasein B och den negativa effekten av  $\kappa$ -kasein E vid chymosininducerad koagulering förmodligen beror på mjölkens  $\kappa$ -kaseinhalt. Denna inverkan av  $\kappa$ -kasein B och E har konstaterats tidigare (t. ex. Ikonen *et al.* 1997; Caroli *et al.* 2000). Att vi inte såg någon effekt av  $\beta$ -laktoglobulingenotyp trots den starka kopplingen mellan  $\beta$ -laktoglobulingenotyp och kaseintal (Tabell 3), pekar på att  $\kappa$ -kaseinet är den viktigaste faktorn i



proteinsammansättningen vad gäller chymosininducerad koagulering – inte kaseinet som helhet. Däremot är en hög protein-/kaseinhalt fortfarande gynnsamt, men proteinsammansättningen, t. o. m. kaseinsammansättningen, går att optimera. Detta styrks vidare av resultaten i Delstudie 4, där det framgick att vid högre  $\kappa$ -kaseinhalt i mjölken så förlorades en mindre andel av kaseinerna till vasslen (Fig. 4). Däremot var högre koncentrationer av övriga kaseiner i mjölken associerade med högre kaseinkoncentrationer även i vasslen. Vi konstaterade även att vasslemängden inte är en bra indikator på koaguleringen, då det är svårt att definiera hur det ska tolkas som mått. Samtidigt som det kan vara positivt med en större vasslemängd då ett starkt koagel pressar ut mer vassle, så kan det för vissa osttyper vara positivt att koaglet har en stor vattenhållande förmåga och därmed avger något mindre vassle.

Även resultaten för syrainducerad koagulering i Delstudie 3 visar att mjölkens proteinsammansättning är viktig. Det är däremot andra proteiner än de vid ystning som spelar huvudrollen. Kontrastera med resultaten i Fig. 4, där högre  $\kappa$ -kaseinkoncentrationer är positivt medan högre koncentrationer av övriga proteiner inte är det. För syra-koagulering har  $\kappa$ -kaseinet ingen större betydelse medan ökande koncentrationer av övriga mjölkproteiner påverkar koaguleringen positivt. Speciellt stor effekt har vassleproteinerna på syrainducerad koagulering och då särskilt  $\beta$ -laktoglobulin. Dessutom såg vi en tydlig genotypeffekt av  $\beta$ -laktoglobulin. AA- och AB-genotyperna verkade överlägsna BB, vilket var oväntat då B-varianten tidigare har associerats med bättre egenskaper (t. ex. Allmere *et al.* 1998). Då vi korrigerade för vassleproteinkoncentration föll dock BB ut som den bättre genotypen. Detta visar att det är den högre koncentrationen  $\beta$ -laktoglobulin associerad med A-varianten (Tabell 3) som bidrar mest till  $G'$ , men att vid lika koncentrationer protein så är BB-genotypen bättre (Fig. 3).

## Slutsater

Det övergripande resultatet som framkommit genom de fyra delstudierna är att mjölkens proteinsammansättning, kvaliteten på proteinfraktionen, har stor betydelse för slutproduktens kvalitet, men att det också är skillnad på optimal proteinsammansättning vad gäller ystning/osttillverkning och tillverkning av fermenterade mjölkprodukter. För gynnsamma förhållanden under ystningsprocessen, med en mjölkråvara som koagulerar snabbt och ger ett fast koagel med små kaseinförluster i vasslen, är det viktigt med en hög koncentration av  $\kappa$ -kasein. En snabb koagulering med ett resulterande fast koagel vid tillverkning av fermenterade mjölkprodukter gynnas av en mjölkråvara med hög vassleproteinkoncentration. Det var t. o. m. så att vi kunde se en indikation på att en hög andel  $\kappa$ -kasein av totalprotein gav längre koaguleringstider vid syra-koagulering. Däremot är det troligt att även om *ökningen* av koagelstyrkan som vassleproteinerna står för, via den värmeinducerade aggregeringen till kaseinmicellerna, blir större med en högre vassleproteinhalt i mjölken, så innebär en högre kaseinhalt istället att ökningen visserligen blir mindre, men att en större andel av proteinerna då ingår i proteinnätverket redan 'från början'. Detta styrks av att koncentrationer av  $\alpha_{s1}$ -kasein och  $\beta$ -kasein var positivt associerade med syra-koaguleringen. Det innebär att ett gemensamt avelsmål

skulle kunna appliceras för både ystmjolk och mjolk till fermenterade mjolkprodukter vid ett avelsarbete att förbättra mjolkkvaliten m. a. p. protein.

Vi har visat hur de genetiska varianterna påverkar mjölkens proteinsammansättning och hur detta sedan ger genomslag på kvaliteten av mjolkprodukter. Ett storskaligt försök i Nya Zeeland att förbättra ostutbytet genom att enbart använda kor med BB-genotypen av  $\beta$ -laktoglobulin gav goda resultat med ökad kaseinhalt i mjölken och ett högre ostutbyte (Boland & Hill 2001). Det skulle dock, enligt vad som framkommit i detta projekt, möjligen vara mer effektivt och dessutom resultera i en förbättrad kaseinsammansättning om man i ett avelsarbete för svenska mjolkkor istället selekterade för att öka frekvensen av  $\kappa$ -kasein B och samtidigt minska frekvensen av E-allelen. Detta skulle vara särskilt intressant eftersom frekvensen av E är högre i kor som selekterats för hög fetthalt i mjölken medan frekvensen av B är lägre (Tabell 2), vilket indikerar att avel för traditionella mjolkproduktionsparametrar selekterar proteingentyper som inverkar negativt på mjolkkvaliteten.

### Publikationer

- Andrén, A., Hallén, E., Wedholm, A., Allmere, T. & Lundén, A. 2004. Mjolk för olika ändamål. *SLF Rapport* nr 68: 73-74.
- Hallén, E., Allmere, T., Näslund, J., Andrén, A. & Lundén, A. 2007. Effect of genetic milk protein polymorphism on rheology of chymosin induced milk gels. 'In press' *International Dairy Journal*, doi:10.1016/j.idairyj.2006.09.01
- Hallén, E., Wedholm, A., Andrén, A. & Lundén, A. Milk protein genotypes in Swedish cattle, effect on milk protein composition and allele specific expression of  $\beta$ -casein,  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin in milk. *Manuskript*.
- Hallén, E., Allmere, T., Andrén, A. & Lundén, A. Effect of genetic milk protein polymorphism on rheology of acid induced milk gels. *Manuskript*.
- Hallén, E., Allmere, T., Andrén, A. & Lundén, A. Genetic milk protein polymorphism and protein losses in whey at chymosin induced coagulation. *Under bearbetning*.

### Referenser

- Allmere, T., Andrén, A., Lindersson, M., Björck, L. (1998) Studies on rheological properties of stirred milk gels made from milk with defined genetic variants of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin. *International Dairy Journal* 8(10-11): 899-905.
- Boland, M., Hill, J. (2001) Genetic selection to increase cheese yield – the Kaikoura experiment. *Australian Journal of Dairy Technology* 56(2): 171-176.
- Bordin, G., Cordeiro Raposo, F., de la Calle, B., Rodriguez, A. R. (2001) Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 928(1): 63-76.
- Caroli, A., Bolla, P., Budelli, E., Barbieri, G., Leone, P. (2000) Effect of  $\kappa$ -casein E allele on clotting aptitude of Italian Friesian milk. *Zootecnica e Nutrizione Animale* 26(3): 127-130.
- Ikonen, T., Ojala, M., Syväoja, E. L. (1997) Effects of composite casein and  $\beta$ -lactoglobulin genotypes on renneting properties and composition of bovine milk by assuming an animal model. *Agricultural and Food Science in Finland* 6: 283-294.
- Lundén, A., Nilsson, M., Janson, L. (1997) Marked effect of  $\beta$ -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *Journal of Dairy Science* 80(11): 2996-3005.