

# SLUTRAPPORT PÅ PROJEKTET ”ÖKAT VÄRDE HOS MJÖLKRÅVARAN – BETYDELSE AV PROTEINSAMMANSÄTTNING FÖR MJÖLKENS TEKNOLOGISKA KVALITET” (SLF 280/02-0230055)

## BAKGRUND

Den ökande konkurrensen på livsmedelsmarknaderna både i Sverige, Norden och globalt har fått sitt genomslag även i mejeribranschen. Det krav som kommer att ställas på mjölkråvaran under 2000-talet genom en alltmer avancerad och intensiv produktutveckling och kvalitetssäkring kommer att överträffa dagens. För att framgångsrikt bemöta de förändrade förutsättningarna inom mejerinäringen krävs nya, mer nyanserade men samtidigt tillämpbara kunskaper om mjölkråvarans egenskaper. I dagsläget är det uppenbart att vi ej utnyttjar mjölkens värde fullt ut, vilket beror på ett antal olika faktorer såsom begränsad kunskap om mjölkens sammansättning, brist på metoder för att snabbt utvärdera mjölkens egentliga värde för användningen, avsaknandet av en holistisk syn på mejeribranschens framtida behov mm. Idag ser vi fortfarande ofta på mjölken som ett homogent material utan att ta hänsyn till dess optimala användbarhet för olika processtekniska ändamål och därmed begränsar vi oss redan från början av den processtekniska produktionskedjan till en smal skala av möjligheter. Det finns ett klart behov av att skapa förutsättningar för att utveckla en produktanpassad mjölkråvara. Detta innebär ett ökat behov av kunskap om mjölkens produktion i relation till tillverkning av mejeriprodukter och även för utveckling av nya produkter.

Syftet med detta projekt har varit att öka kunskapen om olika mjölkkomponenters inverkan på mjölkens processegenskaper såsom ystbarhet och fermentering för att därmed kunna öka utnyttjandegraden av mjölkens komponenter. Mjölkens sammansättning beskrivs oftast genom koncentrationen av grundkomponenter såsom totalprotein, fett och laktos. I själva verket består t ex mjölkens proteinfraktion av ett antal individuella komponenter (Tabell 1), där var och en påverkar ystnings- eller fermenteringsprocessen på sitt unika sätt.

Tabell 1. Innehåll av protein i komjölk samt påvisade genetiska varianter av dessa hos svenska kor

Protein	Koncentration g/l	Genetisk variant	Protein	Koncentration g/l	Genetisk variant
Totalprotein	35				
Kaseiner:	28		Vassleproteiner:	7	
alfa-s1	11	B, C	alfa-laktalbumin	1	B
alfa-s2	3	A	beta-laktoglobulin	4	A, B
Beta	10	A1, A2, A3, B	Serumalbumin	0,5	A
Kappa	4	A, B, E	Immunglobuliner	1	
			Laktoferrin	0,1	

I detta svensk-danska projekt har vi kartlagt den detaljerade proteinsammansättningen i mjölken från utvalda svenska (SRB och SLB) och danska (SMB) kor, samtidigt som vi följt ystningsprocessen samt fermenterbarheten på denna mjölk. Detta tillvägagångssätt har gett oss viktig ny kunskap om hur olika komponenter i mjölken påverkar mjölkens processbarhet och därmed dess ekonomiska värde för mjölkproducent och mejeriindustri. Vi har använt oss av moderna analysmetoderna såsom genotypning mha PCR, vätskekromatografi, 2D-elektrofores, mass-spektrometri samt reologiska metoder i vårt arbete.

## MATERIAL OCH METODER

### *Mjolkprover*

Färsk kvällsmjolk (ca 10 liter) samlades in från 16 SRB, 15 SLB och 14 SDM i september 2003. Mjolk från SRB och SLB togs från Jälla försöksgård (SLU, Uppsala) och mjolk från SDM från Danmarks forskningsinstituts försöksgård (Foulum, Danmark). En andra provtagning från 22 SRB, 8 SLB och 15 SDM ägde rum i januari 2004 och en sista provtagning från ytterligare 20 SRB, 9 SLB och 15 SDM genomfördes i maj 2004. Totalt samlades mjolk in från 134 individuella kor och ingen ko provtogs mer än en gång. Utfodring och skötsel av korna utfördes enligt standardmetoder vid de två försöksgårdarna och alla kor hölls inne vid de tre provtagningstillfällena. Alla kor i studien var friska och mjölkades två gånger per dag. Mjölkutbytet i kg noterades vid det specifika mjölkningstillfället. Korna grupperades i fyra klasser med hänsyn till laktationsstadium: tidig laktation (vecka 6 till 15; 10 SRB, 9 SLB och 9 SDM), mittlaktation (vecka 16 till 30; 36 SRB, 15 SLB och 18 SDM), sen laktation (vecka 31 till 45; 11 SRB, 7 SLB och 11 SDM) och mycket sen (vecka 46 eller senare; 1 SRB, 1 SLB och 6 SDM). Korna grupperades även med hänsyn till laktationsnummer: första laktation (23 SRB, 10 SLB och 17 SDM), andra laktation (19 SRB, 10 SLB och 13 SDM), tredje laktation (10 SRB, 8 SLB och 4 SDM) och fjärde laktation eller senare (7 SRB, 3 SLB och 10 SDM).

### *Ystning*

Individuella mjolkprover förvarades vid 4°C under två dygn varpå de förvärmades till 40°C, avfettades och värmebehandlades (72°C i 15 s). Värmebehandlingen utfördes mha en plattvärmeväxlare i pilotanläggningen på institutionen för livsmedelsvetenskap, SLU, Uppsala. Fyra liter av den avfettade och värmebehandlade mjölken inokulerades med en kommersiell starterkultur (0.1g/L av *Lactobacillus helveticus* 174 och 0.1 g/L av Probat 404, Danisco, Sverige) varpå den inkuberades vid 30°C i 30 min. Därefter tillsattes chymosin (1.25 mL/L, Chy-Max Plus, Chr Hansen A/S, Danmark) under varsam omrörning. Koaglet som bildades efter 30 min vid 30°C skars i kuber (2 cm). För att underlätta syneresen inkuberades ostmassan vid 50°C i ytterligare 30 min under varsam omrörning. Vasslen hällades av och ostmassan pressades (0.04 kg/cm<sup>2</sup>) i 20 timmar vid rumstemperatur. Efter 2 veckors förvaring vid 10°C vägdes ostarna för beräkning av ostutbytet. För beräkning av ostarnas torrsvikt togs ett prov (2 till 3 g) från ostarnas mittpunkt. Ostproverna revs och blandades med en bestämd mängd sand varpå de inkuberades vid 105°C över natten. Innan vägning placerades proverna i en excikator i en timme. Ostutbytet uttrycktes på tre sätt: i relation till mängden ystningsmjolk (g ost per 100 g mjolk eller g torrost per 100 g mjolk) eller som mjolkproteinets övergångstal (g torrost per 100 g mjolkprotein).

### *Rheologiska mätningar*

Direkt efter chymosintillsats överfördes 12 ml av mjölken till en C25-mät kopp i en Bohlin VOR Rheometer (Malvern Instruments, Nordic AB, Uppsala, Sweden). En oscilleringsteknik användes med frekvensen 1 Hz och torsionstaven 2 g\*cm. Temperaturen vid mätningen var 25°C. Elastisicitetsmodulen,  $G'$ , bestämdes vid den konstanta tånjningen, 0.0412, och plottades mot tiden för att bestämma koaguleringsprofilen. Mätningen utfördes under 15 min. Koaguleringstiden definierades som tiden i min från chymosintillsats t o m att mjölken började koagulera. Koagelstyrkan definierades som  $G'$ (Pa) efter 15 min från chymosintillsats.

### *Fermenterbarhet*

En konduktansmetod användes för att analysera hur antimikrobiella substanser i vasslen (t ex laktoferrin) påverkar starterkulturers tillväxt (Lindmark-Månsson m. fl., 2000). Mätningarna

utfördes vid Svensk mjölk i Lund. Metaboliter som produceras av starterkulturen mättes i ett Malthus-system AT (Malthus Instruments Ltd, Crawley, England). Vassle (värmebehandlad) hällades i Malthusrör innehållande värmebehandlad skummjolk, 5% (v/v), inokulerades med starterkultur (Lindmark-Månsson m. fl., 2000), 0.1%, som fick växa till över natten. Totalvolymen i varje rör var 4.85 ml. Elektronisk övervakning utfördes vid 20°C i 48h. Tiden (h) det tog att detektera en konduktansförändring över ett specifikt gränsvärde definierades som detektionstiden (DT). Starterkultur som fick tillväxa i mjölk utan tillsatt vassle användes som kontrollprov. DT för kontrollprovet subtraherades från proverna och gav då den totala ökningen DT (öDT).

### ***Bestämning av mjölkens proteinsammansättning mha HPLC***

Proteinsammansättningen i individuella avfettade och värmebehandlade mjölkprover bestämdes mha ”Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography” (RP-HPLC). Det kromatografiska systemet D-7000 från Merck-Hitachi (Darmstadt, Tyskland) bestod av en HPLC-pump modell L-7100, en autoinjector modell L-7200, en UV detektor modell L-7400 och mjukvaran D-7000 HPLC System Manager. En något modifierad version av den metod som togs fram av Bordin m. fl. (2001) användes. Mjölkprover (100 µl) späddes i reduceringsbuffert (400 µl) bestående av 8 M Urea (Sigma-Aldrich, Steinheim, Tyskland) och 20 mM DL-dithiothreitol (DTT; Sigma-Aldrich, Steinheim, Tyskland) i ultrarent vatten (renat genom ett Milli-Q system, Milipore Corp, Bedford, USA och därefter filtrerat genom ett 0.45 µm cellulosafilter, Sartorius, AG, Göttingen, Tyskland). Proverna lämnades att stå i rumstemperatur under en timme för fullständig reducering av mjölkproteiner. Därefter späddes proverna ytterligare, 1:3, i buffert A (10% acetonitril, Fisher, Loughborough, UK och 0.1% trifluoraceticacid; TFA, Sigma Aldrich, Selez, Tyskland i ultrarent vatten) varpå de centrifugfiltrerades (Ultrafree-CL, PDVF membrane, 0.45 µm, Millipore, Bedford UK). Mjölkproteinerna separerades på en C<sub>4</sub>-kolonn (BioBasic-4, Thermo, Runcorn, UK) av storleken 150x3 mm, 300 Å i pordiameter och med partikelstorlek 5 µm. En volym av 20 µl injicerades på kolonnen. Proteinerna eluerades mha en linjär gradient från 26 till 28% buffert B (10% ultrarent vatten och 0.1% TFA i acetonitril) i 7 min, följt av en linjär gradient till 36% B i 10 min, en isokratisk eluering i 13 min, en linjär gradient till 43% B i 20 min och slutligen en isokratisk eluering i 15 min. Separeringen utfördes vid rumstemperatur och med flödes hastigheten 0.300 ml/min.

Mjölkproteinerna identifierades genom att deras retentionstid jämfördes med retentionstiderna för rena mjölkproteiner ( $\kappa$ -kasein,  $\alpha$ -kasein,  $\beta$ -kasein,  $\beta$ -laktoglobulin A,  $\beta$ -laktoglobulin B och  $\alpha$ -laktalbumin, alla köpta från Sigma-Aldrich, Steinheim, Tyskland). Rena mjölkproteiner (3 mg) upplöstes i 1 ml reduceringsbuffert och behandlades sedan på samma sätt som mjölkproverna. Genom att mäta topparean för olika mängder kända koncentrationer av injicerat mjölkprotein kunde standardkurvor konstrueras, vilka även korrigerades för orenheter hos de inköpta mjölkproteinerna. Standardkurvorna användes till att beräkna koncentrationer av individuella mjölkproteiner representerade av toppareor från de analyserade mjölkproverna. Den analyserade totalproteinkoncentrationen definierades som summan av koncentrationerna  $\kappa$ -kasein,  $\alpha_{s1}$ -kasein,  $\beta$ -kasein,  $\beta$ -laktoglobulin A,  $\beta$ -laktoglobulin B och  $\alpha$ -laktalbumin, den analyserade totalkaseinkoncentrationen som summan av koncentrationerna  $\kappa$ -kasein,  $\alpha_{s1}$ -kasein och  $\beta$ -kasein och den totala vassleproteinkoncentrationen som summan av koncentrationerna  $\beta$ -laktoglobulin A,  $\beta$ -laktoglobulin B och  $\alpha$ -laktalbumin.

### ***Bestämning av andra mjölkvariabler***

Innan värmebehandling togs mjölkprover ut för analysering av mjölkfett, laktos, urea, och pH

mha en Milkoscan FT 6000 (A/S N. Foss electric, Danmark) och celltal mha en Fossomatic 5000 (A/S N. Foss electric, Danmark). Analyserna genomfördes vid Steins laboratorium i Holstebro, Danmark. Celltalet logaritmerades för att få data normalfördelade. Lösligt och micellbundet kalcium analyserades mha atom absorption spektrometri vid avdelningen för djurhälsa, välfärd och nutrition, Danmarks forskningsinstitut, Foulum, Danmark. Laktoferrinkoncentrationen analyserades i värmebehandlade vassleprover mha ett kommersiellt ”Enzyme-Linked Immunosorbent Assay” (ELISA), ”Bovine Lactoferrin ELISA Quantification Kit (Bethyl Laboratories, Inc, Montgomery, TX, USA)”. Proceduren genomfördes vid Svensk mjölk i Lund enligt tillverkarens instruktioner. Graden av proteinnedbrytning, i individuella värmebehandlade och avfettade mjölkprover, bestämdes genom att analysera andelen fria aminoterminaler mha floreskaminmetoden modifierad för mjölkprover (Larsen m. fl., 2004). De fria aminoterminalerna uttrycktes som leucin-equivalenter (mM) enligt en standardkurva för leucin.

### ***Genetiska varianter av $\kappa$ - och $\beta$ -kasein***

Blodprover från SRB- och SLB- korna genotypades för genetiska varianter av  $\kappa$ - och  $\beta$ -kasein mha Pyrosequencing<sup>TM</sup> (Biotage AB, Uppsala, Sweden), vilket är beskrivet av Hallén m. fl., (2006).

### ***Statistisk analys***

***Variationsanalys (ANOVA).*** En generell linjär modell (GLM) i SAS (Ver. 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) användes för att studera hur ras och hjord påverkade koncentrationer av individuella mjölkproteiner och andra analyserade mjölkvariabler. Till detta användes 2 modeller. Modell 1 bestod av den fixa effekten ras, d.v.s. SRB (n=58) eller SLB (n=32) och modell 2 av den fixa effekten hjord d.v.s. SLB (n=32) eller SDM (n=44). En tredje linjär modell användes för att undersöka om ras påverkade  $\beta$ -kaseinkoncentrationen även då effekten av  $\beta$ -kaseingenotyp (A1A1, A1A2, A2A2 och A2B) var inkluderad. En fjärde linjär modell analyserade hur  $\kappa$ -kaseingenotyp (AA, AB eller AE),  $\beta$ -kaseingenotyp (A1A1, A1A2, A2A2 och A2B) och ras påverkade  $\kappa$ -kaseinkoncentrationen. I denna modell inkluderades även den totala kaseinkoncentrationen som kovariat. Den femte linjära modellen analyserade hur laktoferrin, celltal och pH (alla kontinuerliga) påverkade starterkulturtillväxten. Samtliga modeller innehöll även de fixa effekterna provomgång (september, januari eller maj), laktationsstadium (tidig, medel, sen eller mycket sen) och laktationsnummer (1, 2, 3 eller 4). Tvåvägsspel inkluderades då de var signifikanta. Signifikanta skillnader mellan ”least squares means” (LSM) analyserades, baserade på f-värden, genom användandet av kommandot PDIF. GLM användes också för att testa skillnader i ostutbyte mellan bra och dåligt koagulerande mjölk. I denna modell inkluderades endast den fixa effekten av koaguleringsklass (0 eller 1).

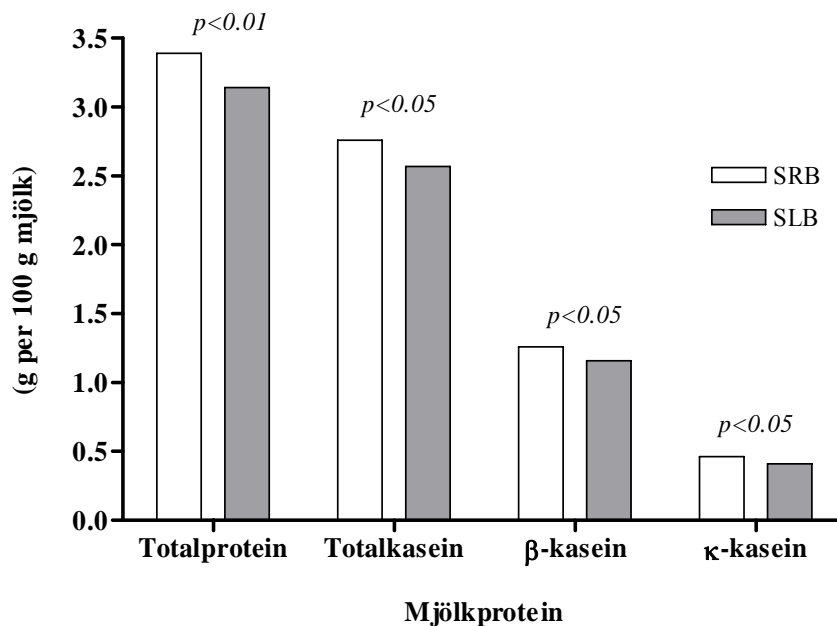
***Multivariat regressionsanalys.*** Partial least square regression analysis (PLS1) genomfördes mha dataprogrammet Unscrambler (version 9.0, CAMO ASA, Oslo, Norway). X-variablerna bestod dels av de beskrivande variablerna ras (SRB, SLB och SDM), laktationsstadium (tidig, medel, sen och mycket sen), laktationsnummer (1, 2, 3 och 4) och provomgång (september, januari och maj) samt de kontinuerliga variablerna: mjölkfett, total kasein,  $\kappa$ -kasein,  $\beta$ -kasein,  $\alpha_{S1}$ -kasein,  $\beta$ -laktoglobulin A,  $\beta$ -laktoglobulin B,  $\alpha$ -laktalbumin, total vassleprotein, total protein, total kasein per totalprotein,  $\kappa$ -kasein per totalkasein,  $\alpha_{S1}$ -kasein per totalkasein,  $\beta$ -kasein per totalkasein,  $\beta$ -laktoglobulin A per total vassleprotein,  $\beta$ -laktoglobulin B per total vassleprotein,  $\alpha$ -laktalbumin per total vassleprotein, laktos, urea, celltal, fria aminoterminaler och kalcium. Y-variablerna bestod av ostutbytet uttryckt som g

ost per 100 g mjölk, g torrost per 100 g mjölk eller som g torrost per 100 g mjölkprotein. För att jämföra mjölksammansättningen i bra och dåligt koagulerande mjölk användes särskiljande PLS1. Standardiserade (centraliserad:  $\mu=0$ , och normaliserade:  $1/SD$ ) variabler och full krossvalidering användes.

## RESULTAT

### ***Skillnader i mjölksammansättning mellan SRB och SLB***

Totalprotein-, totalkasein,  $\beta$ - och  $\kappa$ -kaseinkoncentrationerna var signifikant högre i SRB- än i SLB-mjölk (Figur 1).



Figur 1. Signifikanta skillnader i mjölkproteinkoncentration mellan SRB och SLB

Av övriga analyserade mjölkvariabler var mjölkfettkoncentrationen signifikant högre i SRB-mjölk än i SLB-mjölk, medan laktos, proteolysgrad och pH var högst i SLB-mjölk (Figur 2).

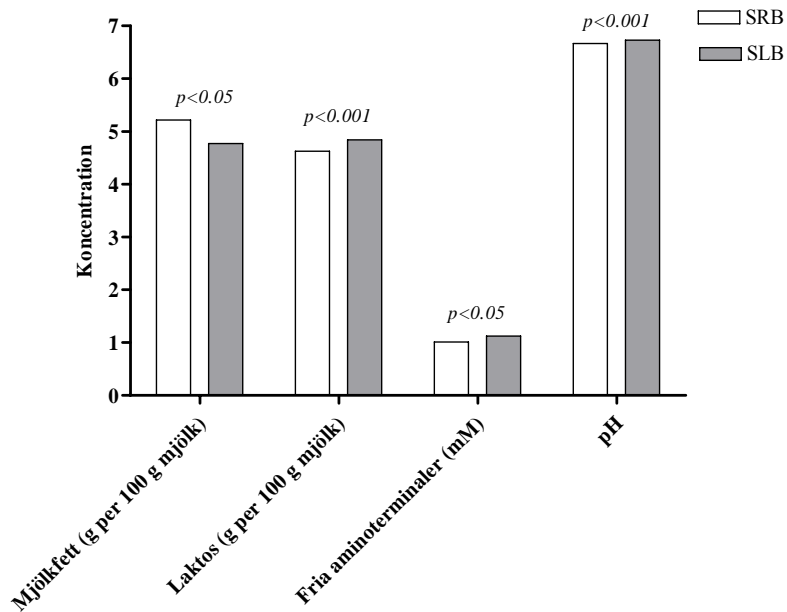
### ***Skillnader i mjölksammansättning mellan SLB och SDM***

Endast  $\alpha$ -laktalbuminkoncentrationen skiljde sig signifikant mellan SLB och SDM, med en högre koncentration i SDM-mjölk. Av övriga analyserade mjölkvariabler var ureakoncentrationen och proteolysgraden signifikant högre i SLB-, medan kalciumkoncentrationen var högst i SDM-mjölk (Figur 3).

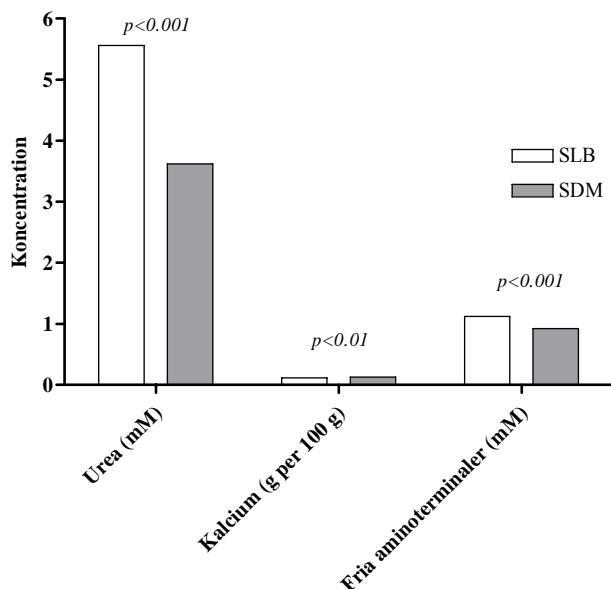
### ***Genetiska varianter av $\kappa$ - och $\beta$ -kasein***

Frekvenserna av  $\kappa$ -kasein AB och AE var högre inom SRB än SLB. Koncentrationen  $\kappa$ -kasein var också signifikant högre ( $p < 0.05$ ) hos kor som bar på AB- i jämförelse med AA-genotypen. Ingen skillnad i  $\kappa$ -kaseinkoncentration syntes mellan AE- och AA- eller AE- och AB-kor. Däremot var frekvensen av  $\kappa$ -kasein AE högre i dåligt än i bra koagulerande mjölk (ej signifikant säkerställt). Av  $\beta$ -kaseingenotyperna hade A1A1 högre frekvens hos SRB-kor än hos SLB-korna, medan A2B var mindre frekvent inom båda raserna. Hur  $\beta$ -kaseingenotypen påverkade  $\beta$ -kaseinkoncentrationen kunde inte analyseras pga en ojämn fördelning av de olika genotyperna mellan provomgångar och laktationsnummer. Men den

signifikanta skillnaden i  $\beta$ -kaseinkoncentration mellan raser (Figur 1) bestod även då effekten av  $\beta$ -kaseingentyp inkluderades i den statistiska analysen.



Figur 2. Signifikanta skillnader i koncentration av analyserade mjölkvariabler mellan SRB och SLB



Figur 3. Signifikanta skillnader i koncentration av analyserade mjölkvariabler mellan SLB och SDM

### ***Dåligt koagulerande och ickekoagulerande mjölk***

Mjölk som bildade ett markant svagare koagel vid skärningstillfället (dvs inte tillräckligt starkt för att kuber kunde bildas) och som hade ett  $G'$ -värde lägre än 15 Pa efter 15 min definierades som dåligt koagulerande mjölk. Av de totalt 134 proverna visade sig 38 vara

dåligt koagulerande (ca 30%). Ytterligare 4 mjölkprover koagulerade inte alls efter 30 min och definierades då som ickekoagulerande mjölk. Koaguleringssegenskaperna påverkade dock inte ostutbytet signifikant, även om det var högre för mjölk med goda koaguleringssegenskaper (Tabell 2).

Tabell 2. Ostutbyte (uttryckt på tre sätt) från bra och dåligt koagulerande mjölk

	g ost per 100g mjölk	g torrost per 100g mjölk	g torrost per 100g mjölkprotein
Dåligt koagulerande mjölk	7.69 ± 0.19	3.03 ± 0.07	92.44 ± 1.61
Bra koagulerande mjölk	8.14 ± 0.13	3.17 ± 0.05	93.20 ± 1.14
Signifikansnivå	$P = 0.055$	$P = 0.139$	$P = 0.682$

### ***Analyserade mjölkvariablers inverkan på ostutbyte och koaguleringssegenskaper***

Signifikanta regressionskoefficienter mellan analyserade variabler och ostutbyte eller koaguleringssegenskaper presenteras i Tabell 3. Det var inga signifikanta skillnader i koaguleringssegenskaper eller ostutbyte mellan de tre raserna. Tidig laktationsvecka var negativt associerad med ostutbytet, uttryckt som g ost per 100 g mjölk, medan sen laktationsvecka var positivt associerad med denna egenskap. Dåligt koagulerande och ickekoagulerande mjölk var minst förekommande inom mycket sen laktationsvecka men vanligt bland förstagångskalvare (laktationsnummer 1). Även ostutbytet var signifikant högre då mjölken togs från förstagångskalvare. I september var ostutbytet (g ost per 100 g mjölk) högre än i januari och i maj. Likaså var den dåligt koagulerande och ickekoagulerande mjölken mindre frekvent under denna period. Fett,  $\kappa$ -kasein,  $\alpha_{s1}$ -kasein,  $\beta$ -kasein, total-kasein,  $\beta$ -laktoglobulin B, totalt  $\beta$ -laktoglobulin, totalprotein, totalt vassleprotein,  $\beta$ -laktoglobulin B i förhållande till totalt vassleprotein och kalcium var alla positivt associerade till ostutbytet uttryckt som g ost per 100 g mjölk. Koncentrationen  $\beta$ -laktoglobulin A,  $\beta$ -laktoglobulin A i förhållande till totalt vassleprotein samt totalt  $\beta$ -laktoglobulin i förhållande till totalt vassleprotein var alla negativt associerade till ostutbytet uttryckt som g ost per 100 g mjölkprotein. Till samma egenskap var koncentrationerna  $\beta$ -laktoglobulin B och kalcium samt totalkasein i förhållande till totalprotein,  $\beta$ -laktoglobulin B till totalt vassleprotein och  $\alpha$ -laktalbumin till totalt vassleprotein positivt associerade. Dåligt koagulerande och ickekoagulerande mjölk hade en signifikant lägre  $\kappa$ -kaseinkoncentration än mjölk med goda koaguleringssegenskaper. Dessutom var förhållandet mellan  $\kappa$ -kasein och totalkasein lägre i dåligt koagulerande och ickekoagulerande mjölk.

### ***Mjölakens fermenterbarhet***

Det var inget signifikant samband mellan mjölakens fermenterbarhet och koncentrationen laktoferrin, celltalet eller pH.

## **DISKUSSION**

Resultaten från försöket visade att  $\kappa$ - och  $\beta$ -kaseinkoncentrationerna var högre i mjölk från SRB än SLB (Figur 1). Den högre  $\kappa$ -kaseinkoncentrationen kan förklaras av en högre frekvens  $\kappa$ -kasein AB genotyp bland de analyserade SRB-korna. Att  $\beta$ -kaseinkoncentrationen var högre i mjölk från SRB-kor skulle kunna relateras till den signifikant lägre proteinnedbrytningsgraden i SRB jämfört med SLB-mjölk (Figur 2). Trots skillnader i kaseinkoncentration var det inga signifikanta skillnader i koaguleringssegenskaper eller ostutbyte mellan SRB- och SLB-mjölk. Resultaten visar att ett flertal variabler har betydelse för ystningsprocessen och att det är svårt att finna endast en eller ett fåtal viktiga markörer.

Tabell 3. Signifikanta regressionskoefficienter mellan analyserade mjölkvariabler och ostutbyte eller koaguleringssegenskaper

Variabel	g ost per 100g mjölk		g torrost per 100g mjölkprotein		Dåligt koagulerande och icke koagulerande mjölk	
	Regkoeff	<i>P</i> -värde	Regkoeff	<i>P</i> -värde	Regkoeff	<i>P</i> -värde
Laktationsvecka						
Tidig	-0.083	<i>P</i> <0.01				
Medel						
Sen	0.093	<i>P</i> <0.01				
Mycket sen					-0.135	<i>P</i> <0.05
Laktationsnummer						
1	0.033	<i>P</i> <0.05			0.151	<i>P</i> <0.05
2						
3						
4	-0.041	<i>P</i> <0.01				
Provomgång						
september	0.036	<i>P</i> <0.05			-0.065	<i>P</i> <0.05
januari						
maj						
Fett	0.085	<i>P</i> <0.01				
κ-kasein	0.073	<i>P</i> <0.001			-0.146	<i>P</i> <0.001
α <sub>s1</sub> -kasein	0.107	<i>P</i> <0.001				
β-kasein	0.119	<i>P</i> <0.001				
Total-kasein	0.126	<i>P</i> <0.001				
β-laktoglobulin A			-0.044	<i>P</i> <0.01		
β-laktoglobulin B	0.079	<i>P</i> <0.01	0.061	<i>P</i> <0.001		
β-laktoglobulin total	0.066	<i>P</i> <0.001				
Totalprotein	0.131	<i>P</i> <0.001				
Totalkasein/totalprotein			0.040	<i>P</i> >0.01		
κ-kasein/totalkasein					-0.178	<i>P</i> <0.001
Total vassle protein	0.069	<i>P</i> <0.001				
β-laktoglobulin A/ total vassleprotein			-0.058	<i>P</i> <0.001		
β-laktoglobulin B/ total vassleprotein	0.041	<i>P</i> <0.05	0.058	<i>P</i> <0.001		
β-laktoglobulin total/ total vassleprotein			-0.037	<i>P</i> <0.01		
α-laktalbumin/ total vassleprotein			0.037	<i>P</i> <0.01		
kalcium	0.003	<i>P</i> >0.001	0.001	<i>P</i> <0.05		

Det var ett häpnadsväckande högt antal dåligt koagulerande och ickekoagulerande mjölkprover, mer än 30 % av det totala antalet analyserade prover. Den signifikant lägre κ-kaseinkoncentrationen i mjölk med dåliga koaguleringssegenskaper samt den lägre andelen κ-kasein i förhållande till totalkasein stämmer överens med resultat rapporterade av St-Gelais & Haché (2005). De visade att koaguleringssegenskaperna försämrades i och med att extra β-kasein tillsattes, vilket innebar att andelen κ-kasein minskade. Resultaten från denna studie visar att genotypen κ-kasein AB kan ha en indirekt inverkan på koaguleringssegenskaperna i och med att κ-kaseinkoncentrationen var högre hos kor som bar på denna genotyp. Eftersom frekvensen av κ-kasein AE var högre hos kor med dåliga koaguleringssegenskaper utan att påverka κ-kaseinkoncentrationen är det troligt att denna genotyp istället påverkar κ-kaseinets funktion så att koaguleringssegenskaperna försämrats.



Kaseintalet, dvs totalkasein i förhållande till totalprotein, var viktigt för ostutbytet uttryckt som g torrost per 100 g mjölkprotein. Eftersom ostarna tillverkades av avfettad mjölk består ostarnas torrsubstans till allra största del av protein, vilket innebär att g torrost per 100 g mjölkprotein är ett ungefärligt mått på proteinets övergångstal. Därav kan vi dra slutsatsen att kaseintalet har en signifikant betydelse för proteinets övergångstal, från mjölk till ost. Resultaten visar också att  $\beta$ -laktoglobulin B var associerad med ett högre ostutbyte vilket troligen är relaterat till en lägre koncentration  $\beta$ -laktoglobulin och därmed ett högre kaseintal (Schaar, 1985; van den Berg m. fl., 1992; Lundén m. fl., 1997).

Lite oväntat så var det inget signifikant samband mellan koagelstyrkan och ostutbytet. Däremot syntes att skillnaden i utbyte uttryckt som g torrost per 100 g mjölk var mindre än när utbytet uttrycktes som g ost per 100 g mjölk (Tabell 2). Det betyder att koaguleringsegenskaperna kan ha en betydelse för ostens vattenbindande kapacitet. Liknande resultat har rapporterats av Johnson m. fl. (2001) som visade att ett fastare koagel vid skärningstillfället resulterade i ost med högre vattenhalt och därmed en mjukare och finare textur.

En tidigare studie visade att laktoferrin hade en inhiberande effekt på mjölkens fermenterbarhet (Lindmark-Månsson m. fl., 2000), vilket inte överrensstämmer med resultaten från denna studie. Om laktoferrin inte har någon negativ inverkan på starterkultur tillväxten är det ju mycket positivt eftersom dess antimikrobiella aktivitet (Bullen m. fl. 1978; Smith & Schanbacher, 1977) är viktig i ett hälsoperspektiv.

För att finna ytterligare markörer i mjölken för goda ystningsegenskaper pågår en analys av mjölkens totala proteinsammansättning, dvs där alla mjölkens proteiner med olika grader av fosforylering eller glykosylering samt olika genetiska varianter analyseras. För separering av mjölkproteiner används tvådimensionell gelelektrofores och för identifiering används masspektrometri. Denna del av projektet, som finansieras av danska Mejeribrugets ForskningsFond (MFF) utförs hos Dansk Jordbruksforskning (Lotte Bach Larsen) vid Foulum i Danmark och kommer att avslutas under hösten 2006 (två publikationer under bearbetning).

## **PUBLIKATIONER**

- Andrén, A., Hallén, E., Wedholm, A., Allmere, T. & Lundén, A. (2004). Mjölk för olika ändamål. Konferensrapport från Jordbrukskonferensen 2004 (23-24 november), SLF Rapport nr 68 (ISSN 1104-6082), p. 73-74
- Wedholm, A. Hallén E. Larsen, L.B. Lindmark-Månsson H. Karlsson, A. H. & Allmere, T. (2006). Comparison of milk protein composition in a Swedish and Danish dairy herd using reversed phase HPLC. *Acta Agriculturae Scand Section A, Animal Science*, 56:8-15
- Wedholm, A. Larsen L.B. Lindmark-Månsson, H. Karlsson, A. H. & Andrén, A. (2006). Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89:3296-3305

## REFERENSER

- Bordin, G., Rapso, F. C., Calle, B. & Rodriguez, A. R. (2001). Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. *Journal of chromatography* 928, 63-76.
- Bullen, J. J., Rogers, H. J. & Griffiths, E. (1978). Role of iron in bacterial infection. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 80, 1-35.
- Hallén, E., Allmere, T., Näslund, J., Andrén, A. & Lundén, A. (2006). Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin induced milk gels. Accepted for publication in *International Dairy Journal*.
- Johnsson, M. E., Chen, C. M. J. & Jaeggi, J. J. (2001) Effect of rennet coagulation time on composition, yield and quality of reduced-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 84, 1027-1033.
- Larsen, L. B., Rasmussen, M. D., Bjerring, M. & Nilsen, J. H. (2004) Proteases and protein degradation in milk from cows infected with *Streptococcus uberis*. *International Dairy Journal* 14, 899-907.
- Lindmark Månsson, H., Svensson, U., Paulsson, M., Aldén, G., Frank, B. & Johnsson, G. (2000). Influence of milk components, somatic cells and supplemental zinc on milk processability. *International Dairy Journal* 10, 423-433.
- 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, 2996-3005.
- Schaar, J., Hansson, B. & Pettesson, H.E. (1985). Effects of genetic variants of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin on cheesemaking. *Journal of Dairy Research* 52, 429-437.
- Smith, K.L. & Schanbacher, F. L. (1977). Lactoferrin as a factor of resistance to infection of the bovine mammary gland. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 170, 1224-1227.
- St-Gelais, D. & Haché S. (2005). Effect of  $\beta$ -casein concentration in cheese milk on rennet coagulation properties, cheese composition and cheese ripening. *Food Research International* 38, 523-531.
- van den Berg, G., Escher, J. T. M., de Koning, P. J. & Bovenius, H. (1992). Genetic polymorphism of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin in relation to milk composition and processing properties. *Netherlands Milk Dairy Journal* 46, 145-168.