

”SVÅRKOAGULERAD MJÖLK – KARAKTERISERING OCH EFFEKTER PÅ OSTUTBYTET”

Bakgrund

Svårkoagulerad mjölk

Mjölk som visar dålig koaguleringsförmåga efter tillsats av löpe beskrevs redan under första hälften av 1900-talet och många studier finns refererade i C-O Claessons avhandling (1965). Svårkoagulerad mjölk klassades då som antingen ”alkalisk” (typ A) eller ”svårkoagulerad” (typ B eller C) (Koestler, 1925). Typ A skulle idag klassas som mastitmjölk utifrån hur dess sammansättning beskrevs. Typ B och C kom från högproducerande kor, oftast besläktade, och hade ”normal” sammansättning med undantag av att mjölk av B-typ hade låg kalciumhalt.

Okigbo *et al.* (1985a) visade att förekomst av svårkoagulerad mjölk ökade med laktationsmånad samt att närmare 40% av en grupp Holsteinkor (n=50) producerade svårkoagulerad mjölk under den sista laktationsmånaden. Fortsatta studier (Okigbo *et al.* 1985b) visade att koagulerbarheten hos svårkoagulerad mjölk inte förbättrades efter blandning med lika andel välkoagulerande mjölk. Kalciumtillsats och pH-sänkning, tillsammans eller var för sig, förbättrade förvisso koagulerbarheten och koagelfastheten men inte till samma nivå som för mjölken med god koagulerbarhet. Följaktligen medför inblandning av svårkoagulerad mjölk en försämring av ystmjölken som inte kan korrigeras till fullo. Det skall dock noteras att studierna av Okigbo *et al.* (1985a, b) gällde senlaktationsmjölk där orsakerna till den sämre koagulerbarheten till en del kan bero på att kaseinet brutits ned av plasmin, ett enzym som förekommer i förhöjd koncentration i mjölken under sen laktation.

Omfattande studier av koagulerbarheten hos mjölk från kor av Finsk Ayrshire-ras har utförts av finska forskare (Ikonen *et al.* 1999, 2004; Tyrisevä *et al.* 2003, 2004). De fann att upp emot 30% av kor av nämnda ras producerade svårkoagulerad mjölk under höglaktation, varav närmare 9% producerade icke-koagulerande mjölk (ingen koagulering inom 30 minuter efter löpetillsats). Även kor av rasen Holstein-Friesian visade sig producera svårkoagulerad mjölk i deras undersökning, men andelen kor var betydligt lägre (12%, varav 1.3% icke-koagulerande) och den svårkoagulerade mjölken uppträdde främst i slutet av laktationen. Protein- och kalciumhalterna i den svårkoagulerade mjölken skilde sig inte signifikant från mjölk med god koagulerbarhet i dessa studier.

Mjölakens koagulering vid osttillverkning

Mjölakens koagulering under ystningsprocessen brukar indelas i tre faser. Under fas ett sker en enzymatisk reaktion där löpeenzymer (chymosin och pepsin) spjälkar den hydrofila och negativt laddade ”svansen” av kappa-kasein vilken återfinns på kaseinmicellens yta. Fas två utgörs av en spontan reaktion då kaseinmicellen efter spjälkningen blivit hydrofob och därför aggregerar med andra miceller. I detta skede har kaseinmicellen en nettoladdning nära noll varigenom repelleringen mellan de tidigare negativt laddade micellerna har upphört. Den initiala koaguleringen av mjölken övergår sedan successivt i ett homogent koagel, där de aggregerade kaseinmicellerna binds ihop ytterligare via kalciumbryggor. Den tredje fasen, syneresen, induceras vid nästa steg i ystningsprocessen då koaglet bryts (skärs i

kuber). Under syneresen krymper koaglet och avger vassle i varierande grad beroende på temperatur, storlek på koagelkuberna, omrörningshastighet, kalciumkoncentration, etc. De följande stegen i osttillverkningen inbegriper formning, pressning, saltning samt mognadslagring.

Faktorer som påverkar de två första faserna vid mjölkens koagulering

De faktorer som påverkar koaguleringens första och andra fas är främst mjölkens pH (kopplat till syrningskultur och kalciumtillsats), temperatur, kaseinhalt, kaseinsammansättning (genetiska mjölkproteinvarianter), kalciumhalt (totalt, samt fritt i mjölkserum respektive bundet i kaseinmicellen), och typ av löpe samt dess mängd och aktivitet (styrka). Dessutom inverkar kaseinmicellernas storlek, vilket har visats av bl a Ekstrand *et al.* (1980, 1981). De fann att medelstora kaseinmiceller hade den bästa koaguleringsförmågan. Det är allmänt accepterat att mängden kappa-kasein i mjölken styr micellstorleken varvid micellstorleken minskar med ökande koncentration av kappa-kasein. Ekstrand *et al.* (1980) visade även att tillsats av rent kappa-kasein förbättrade koagulerbarheten genom att den genomsnittliga micellstorleken minskade, medan tillsats av alfa-s1- respektive beta-kasein förlängde koaguleringstiden. Sämre koagulerbarhet hos mjölk med större medelstorlek av micellerna har även visats i en norsk studie på getmjölk (Devold, 2004). Koagulerbarheten påverkas även av totalkoncentrationen kasein, vilket styrks av att mjölk från Jerseykor med högre kaseinhalt, trots en större medelstorlek på micellerna än mjölk från Svensk Holstein, har bättre koagulerbarhet än de senare (Ekstrand *et al.* 1981). Tidigare studier vid Institutionen för Livsmedelsvetenskap har visat att genetiska varianter av mjölkproteiner kan kopplas till mjölkens koaguleringssegenskaper (Hallén *et al.* 2007a), via effekter på mjölkens kappa-kaseinhalt (Hallén *et al.* 2007b). Dåligt koagulerande mjölk karaktäriseras även av låg kappa-kaseinhalt (Wedholm *et al.* 2007).

Projektet har syftat till att karaktärisera svårkoagulerad mjölk med avseende på:

- Sammansättning
 - fett-, protein-, laktos-, kalciumhalt; kaseinmicellstorlek; celltal; pH
- Proteinsammansättning
 - alfa-s1-, alfa-s2-, beta-, kappa-kasein; beta-laktoglobulin; alfa-laktalbumin
- Koagulerbarhet
 - före och efter tillsats av kalcium

Material & Metoder

Mjölkprover

Mjölk från samtliga mjölkande kor i besättningen på Jälla försöksgård (SLU, Uppsala) screenades för koagulerbarhet. Individuella prover samlades in och 10 µL chymosin (Chymax Plus, 200 IMCU (international milk clotting units)/mL; Christian Hansen A/S, Hørsholm, Danmark) tillsattes 6 mL förvärmad (30°C, 30 min) mjölk. Kor valdes ut för vidare provtagning baserat på den visuellt uppskattade koaguleringstiden, förutsatt att de inte uppvisade kliniska tecken på mastit och hade ett celltal <300,000. Tre screening-omgångar utfördes mellan april och augusti 2006. Totalt 26 kor valdes ut (16 bra, 10 icke-/dåligt koagulerande) och från dessa samlades morgonmjölksprover in en gång per vecka. De utvalda korna var i laktationsvecka 12 till 43 och antal prov per ko

varierade från ett till nio med slutligen totalt 87 prover. Av korna var 15 SRB och 11 SLB. SRB-korna var uppdelade på två selektionslinjer; en för hög (SRB H) och en för låg (SRB L) fetthalt i mjölken. Bronopol (2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ av en 17%-ig 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). IR- och koaguleringsanalyser utfördes på färsk mjölk som förvarats vid 4°C, medan proteinsammansättning, kalciumhalt och micellstorlek analyserades i mjölk som förvarats vid -80°C. Mjölkkavkastning vid provtagningstillfället, laktationsnummer, laktationsvecka och provtagningsvecka registrerades även.

Även ett antal bra (6 st) respektive icke-koagulerande (16 st) mjölkprover från Finska Ayrshire-kor analyserades för proteinsammansättning och micellstorlek. Dessa prover, med tillhörande uppgifter om mjölkkavkastning vid provtagningstillfället, laktationsnummer och laktationsvecka, samt analysresultat med avseende på fetthalt, proteinhalt, celltal och koaguleringssegenskaper, erhöles från A-M Tyrisevä, Helsingfors Universitet.

Bestämning av mjölkproteinvarianter

DNA preparerades från blod varefter kornas genotyp avseende beta-kasein och kappa-kasein bestämdes med hjälp av Pyrosequencing (Biotage AB, Uppsala), en PCR-baserad metod som bygger på realtidsekvensering. Variant av beta-laktoglobulin utlästes från HPLC-kromatogrammen (se metod nedan). Dessa analysresultat verifierades genom att ett antal prover även genotypades för beta-laktoglobulin med hjälp av Pyrosequencing.

Reologiska mätningar

Mjölakens koaguleringssegenskaper analyserades reologiskt med en Bohlin VOR Reometer (Malvern Instruments Nordic AB, Uppsala, Sverige) dagen efter provtagning. Avfettade mjölkprover förvärmades (30°C, 30 min) och innan tillsats av chymosin mättes pH (Meterlab PHM 83; BergmanLabora AB, Upplands-Väsby, Sverige). Mätssystemet couette C25 användes med en 2 g*cm torsionsstav och mängden prov var 12 mL. Oscillation vid en frekvens av 1 Hz och 0,0412 konstant deformation applicerades vid en temperatur på 30°C. Koaguleringsförloppet följdes från tillsats av chymosin (20 μL Chymax Plus; t_0) under 30 minuter 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 efter 30 min (t_{30}). Mätningen upprepades en gång för varje prov, andra gången tillsattes kalcium innan förvärmningen (20 μL 5% CaCl_2 ; Christian Hansen A/S, Graasten, Danmark). Kalciumtillsatsen motsvarade 50 g CaCl_2 per 100 kg ystmjölk och skall jämföras med de 5-20 g som normalt tillsätts mjölken vid svenska ysterier.

Analys av proteinsammansättning

Koncentration av de sex vanligaste mjölkproteinerna (alfa-s1-kasein, alfa-s2-kasein, beta-kasein, kappa-kasein, beta-laktoglobulin och alfa-laktalbumin) analyserades 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 C₄-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 ekvilibriering av kolonnen vid 26% B. En kromatografisk körning tog totalt 75 minuter och mjölkprover preparerades dagligen, tio stycken i taget. Avfettad mjölk späddes 1:5 i en reducerande buffert (8 M urea, 20 mM ditiotreitol) och fick stå en timme i rumstemperatur innan ytterligare spädning 1:3 i buffert A innehållande 6 M urea. Injektionsvolym var 20 µL.

Analys av kalcium

Totalkoncentration av kalcium i avfettade mjölkprover analyserades med ICP (inductively coupled plasma) av Steins Laboratorium AB (Löddeköpinge, Sverige).

Micellstorlek

Kaseinmicellernas storlek analyserades med PCS (photon correlation spectroscopy) (ZetaSizer 3000HS; Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK) vid Instituttt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap (Universitetet for Miljø- og Biovitenskap, Ås, Norge). Micellerna fixerades vid infrysning med en tillsats av 2% glutardialdehyd. Vid analystillfället tinades mjölkproverna först under 40 min i rumstemperatur, följt av inkubering i 25°C vattenbad 20 min. En droppe mjölk späddes sedan i 3 mL SMUF (simulated milk ultra-filtrate) (ca 1:1000) och provet inkuberades ytterligare 20 minuter i 25°C vattenbad. Unimodal mode användes och analysen utfördes vid rumstemperatur, scattering angle 90° och våglängd $\lambda=633$ nm. Efter 90 s fördröjning gjordes tre upprepade mätningar på varje prov, provtiden var satt till auto. För att undvika störningar av damm, sköljdes kyvetterna med SMUF före varje analys och proverna filtrerades genom 0.45 µm filter.

Statistiska analyser

Multivariat regressionsanalys utfördes i mjukvaran Unscrambler (Camo Process AS, Oslo, Norge). Mjölkproverna delades in i icke-/svårkoagulerande (0, NC) respektive koagulerande (1, Koag), baserat på CT och G' vid t_{30} utan kalciumtillsats, och analyserades med PLS1 (partial least squares). Standardiserade variabler (centrerade $\mu=0$, normaliserade $1/SD$) och 'full cross validation' användes. Koaguleringsförmågan (CT och G') av NC- respektive Koag-mjölk med kalciumtillsats jämfördes med *t*-test. Värden för celltal, CT och G' logaritmerades för att få normalfördelade data. Laktationsnummer delades in i två klasser; första laktationen och andra eller senare laktationer.

Resultat och diskussion

Tabell 1 ger en översikt över antalet kor och prover samt fördelningen mellan NC-respektive Koag-gruppen. Bland de svenska korna som det togs upprepade prover från fanns det vissa individer som växlade mellan koaguleringsgrupperna under provtagningsperioden.

Tabell 1. Antal kor/prover i försöket

	Totalt	NC [§]	Koag [‡]
Svenska kor	26	10	16
-prover	87	46	41
Finska kor/prover	22	16	6

[§]Icke-/svårkoagulerande mjölkprover, koaguleringstid >30 min/15-30 min

[‡]Koagulerande mjölkprover

De svenska kornas genotyp för beta-laktoglobulin och kombinerad beta-/kappa-kaseingenotyp redovisas i Tabell 2. På grund av det låga antalet kor kan inga slutsatser dras om skillnader i genotypfrekvens mellan NC- och Koag-gruppen, men tidigare studier har inte kunnat visa på samband mellan mjölkproteingenotyp och icke-koagulerande mjölk (Ikonen *et al.* 1999). De finska kor från vilka vi erhållit mjölkprover var ej genotypade.

Tabell 2. Genotypfrekvenser av beta-laktoglobulin och beta-kasein (b-CN)/kappa-kasein (k-CN), hos de svenska kor som ingick i försöket och producerade icke-/svårkoagulerande respektive koagulerande mjölk

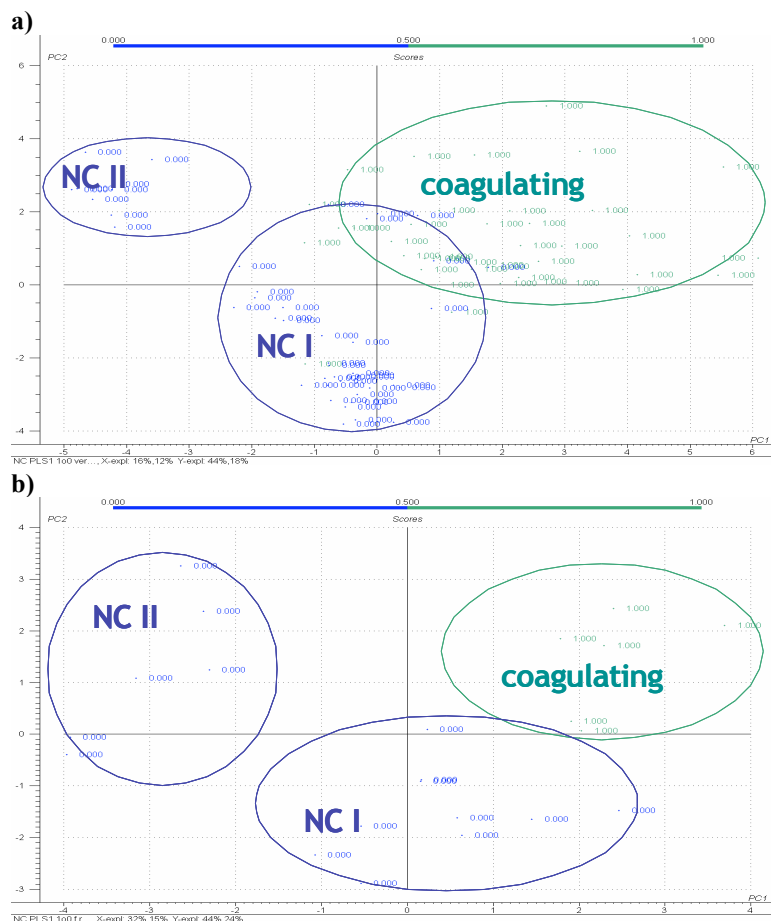
Lokus	Genotyp	n [§]	Frekvens		
			Totalt (n=26)	NC [‡] (n=10)	Koag [¶] (n=16)
beta-laktoglobulin	AA	5	0.19	0.10	0.25
	AB	15	0.58	0.60	0.56
	BB	6	0.23	0.30	0.19
Kaseingenotyp	b-CN A ¹ A ¹ k-CN AA	1	0.04	0	0.06
	b-CN A ¹ A ¹ k-CN AB	1	0.04	0.10	0
	b-CN A ¹ A ¹ k-CN EE	1	0.04	0	0.06
	b-CN A ¹ A ² k-CN AA	7	0.27	0.20	0.31
	b-CN A ¹ A ² k-CN AB	1	0.04	0	0.06
	b-CN A ¹ A ² k-CN AE	3	0.12	0	0.19
	b-CN A ² A ² k-CN AA	7	0.27	0.50	0.13
	b-CN A ² A ² k-CN AB	3	0.12	0.20	0.06
	b-CN A ² A ² k-CN BB	2	0.08	0	0.13

[§]Antal kor

[‡]Icke-/svårkoagulerande mjölkprover, koaguleringstid >30 min/15-30 min

[¶]Koagulerande mjölkprover, koaguleringstid <5 min

Multivariat regressionsanalys innebär att data omvandlas och projiceras i ett koordinatsystem så att den största variansen kommer att ligga längs den första koordinaten (PC1, x-axeln i figurerna nedan) och den näst största variansen längs den andra koordinaten (PC2, y-axeln i figurerna nedan), osv. I en "score plot" plottas alla prover i koordinatsystemet och visar samband mellan prover och i en "loading plot" kan korrelationer mellan prover och variabler utläsas.



Figur 1. Score plot. a) svenska prover, b) finska prover.

Score plot från resultaten visar att mjölkproverna bildade tre grupper (Fig. 1). Förutom en tydlig separering av NC- (blå ettor) respektive Koag-prover (gröna nollor) så var NC-proverna också uppdelade i två grupper. En grupp (NC I) låg i anslutning till Koag-gruppen men längre ner på y-axeln, medan vissa värden låg avskilda i vänstra delen av koordinatsystemet längs x-axeln (NC II). Detta mönster återfanns både i det svenska (Fig. 1a) och det finska datasetet (Fig. 1b). I det svenska datasetet kom alla prover i NC II-gruppen från en enskild ko vars mjölksammansättning under hela provtagningsperioden var extrem (nio prover); högt pH, lågt proteininnehåll, låg laktoshalt, ingen koagulering inom 30 minuter utan kalciumtillsats och ingen eller mycket dålig koagulering med kalciumtillsats. Dessutom fanns indikationer på förhöjd proteolytisk aktivitet i mjölkproverna från denna ko. Av HPLC-kromatogrammen framgick att mjölken innehöll mycket nedbrytningsprodukter samt att proteinerna beta-kasein och alfa-s1-kasein återfanns i ovanligt låga koncentrationer. Intressant i sammanhanget är att dessa proteiner utgör substrat för plasmin, det huvudsakliga proteolytiska enzymet i mjölk. Dessutom, vid en jämförelse av totalproteinhalten analyserad med IR respektive HPLC (summan av de individuellt analyserade proteinerna) visade sig IR-metoden ofta ge en högre proteinhalt jämfört med HPLC-metoden för NC-proverna. För Koag-proverna korrelerade de två metoderna bättre medan korrelationen var sämst för NC II-proverna. Skillnaden i resultat mellan de två

metoderna indikerar också högre förekomst av proteolys i NC-proverna (speciellt NC II), då IR bygger på analys av peptidbindningar och alltså även inkluderar peptider och nedbrytningsprodukter, medan med HPLC analyseras enbart intakta proteiner. Något förhöjda celltal kunde också observeras i NC II-mjölken, både i de svenska och i de finska proverna. En tänkbar förklaring till de gjorda iakttagelserna är att den svenska kon med NC II-mjolk kan ha haft en sub-klinisk juverinfektion, begränsad till en juverfjärdedel eftersom celltalet i samlingsmjölken fortfarande inte var onormalt högt, och att den därav ökade proteolysen orsakat en starkt negativ effekt på koaguleringsförmågan. Samma förklaring skulle kunna vara tillämplig även i fallet med de finska NC II-proverna. Detta skulle dock behöva utredas ytterligare.

Enligt score plot (Fig. 1) and loading plot (visas ej) för både det svenska och det finska datasetet var PC 1 (x-axeln) associerad med mjölkens koaguleringsförmåga, ökande från dålig till bra från vänster till höger. Även proteinhalten ökade från vänster till höger längs PC 1. PC 2 (y-axeln) associerades med mjölkens kappa-kaseinhalt, från hög till låg uppifrån och ner. Kappa-kasein är ett protein som är positivt associerat med mjölkens koaguleringsförmåga, vilket stöds av våra resultat där Koag-proverna var associerade med högre och NC I med lägre kappa-kaseinhalt. NC II-proverna innehöll däremot både låga och höga halter av kappa-kasein, varför antagandet om ökad proteolys i NC II ändå stämmer, eftersom plasmin inte bryter ned detta protein.

Trots det relativt låga antalet kor i denna studie, samt det faktum att de svenska NC II-proverna härrörde från en och samma ko, visar ändå de svenska provresultaten samma gruppering i den multivariata regressionsanalysen som de finska provresultaten. De finska proverna utgjordes av mjölkprover från enskilda kor och de visade också ett mönster med tre distinkta kategorier av koaguleringsförmåga; Koag, NC I och NC II.

Tabell 3. Viktade regressionskoefficienter för effekt av analyserade variabler på koaguleringsförmåga av individuella mjölkprover från svenska och finska kor med chymosin ($P < 0.05$)

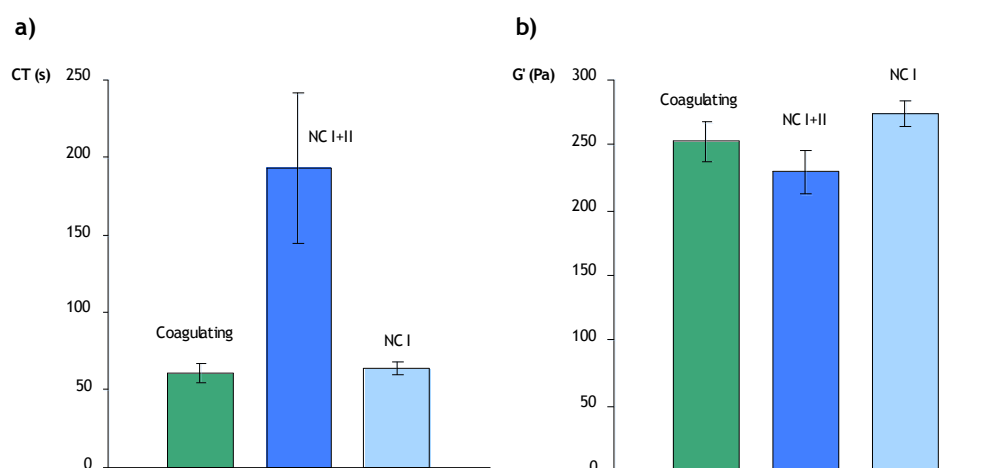
Variabel	Svenska prover	Finska prover
Totalproteinkoncentration, analyserad m IR	-0.047	<i>n.s.</i> §
Totalproteinkoncentration, analyserad m HPLC	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
Totalprotein HPLC/totalprotein IR	0.079	<i>n.s.</i>
Kaseiner/totalprotein, HPLC	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
alfa-s1-kasein, koncentration	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
alfa-s2-kasein, koncentration	<i>n.s.</i>	-0.158
beta-kasein, koncentration	-0.050	<i>n.s.</i>
kappa-kasein, koncentration	0.095	0.286
beta-laktoglobulin, koncentration	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
alfa-lakalbumin, koncentration	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
Laktationsvecka	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
Laktationsnummer	0.079	0.205
Mjölkvkastning	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
Celltal	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
Fett, koncentration	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
Laktos, koncentration	0.092	-
Kalcium, koncentration	<i>n.s.</i>	-
pH	-0.087	-
Kaseinmicellstorlek	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>

§ej signifikant

Effekter av ett antal parametrar på mjölkens koaguleringsförmåga (utan kalcium) visas i Tabell 3. Kvoten ”totalprotein analyserad med HPLC/totalprotein analyserad med IR” var positivt associerad med koaguleringsförmågan, men var signifikant bara i det svenska datasetet. Detta betyder att ju högre korrelationen var mellan de två analysmetoderna, desto bättre koagulerade mjölken, och att detta indikerar lägre grad av proteolys i mjölken.

Såväl kappa-kaseinhalt som laktationsnummer visade positiva samband med koaguleringsförmågan i båda dataseten. Detta överensstämmer med resultat från Wedholm *et al.* (2007), vilka fann att dåligt koagulerande mjölk karakteriserades av låg kappa-kaseinhalt samtidigt som den framförallt förekom hos kor i första laktation. Likaså fann vi att koaguleringsförmågan förbättrades med ökande laktoshalt och sjunkande pH-värde. De senare variablerna var dock bara analyserade i de svenska proverna. Mjölkens totalkoncentration av naturligt förekommande kalcium visade inget samband med mjölkens förmåga att koagulera. Detta skall dock inte tolkas som att kalciumet i mjölken saknar betydelse i sammanhanget. Exempelvis är det allmänt känt att mjölkens koncentration av kalciumjoner, dvs ’fritt kalcium’, är av stor vikt för koaguleringsförmågan. Mängden fritt kalcium i mjölk är emellertid en svårhanterlig parameter, eftersom jämvikten fritt/bundet kalcium varierar med mjölkens temperatur och förvaringstid, varför analyser av koncentrationen kalciumjoner utelämnades i denna studie.

Resultat från koagulering av de svenska mjölkproverna med tillsatt kalcium visas i Fig. 2. Jämfört med alla NC-prover sammantaget (NC I+II) hade Koag-proverna en signifikant lägre CT efter kalciumtillsats (Fig. 2a) medan det inte iaktogs någon skillnad mellan NC I och Koag-mjölk. Det iaktogs heller inga skillnader i G' mellan de olika kategorierna av mjölk (Fig. 2b). Mot bakgrund av att många mjölkprover överhuvudtaget inte koagulerade utan kalciumtillsats är det intressant att notera att tillsats av kalcium förbättrade koagelstyrkan hos icke-/svårkoagulerad mjölk till samma nivå som den välkoagulerande mjölken (Fig. 2b). Det bör påpekas att den av oss använda kalciumtillsatsen var 3-10 gånger högre än den kalciumtillsats som normalt används vid svenska ysterier.



Figur 2. Koaguleringsförmåga hos individuella mjölkprover med chymosin efter tillsats av kalcium. Jämförelse av icke-/dålig koagulerande (NC) och välkoagulerande (coagulating) mjölk. **a)** koaguleringstid (CT), **b)** koagelstyrka (G')

Sammanfattning

Det tycks föreligga två distinkta kategorier av NC-mjolk, såväl bland de svenska som de finska mjolkproverna:

NC I Dåligt koagulerande mjolk som karaktäriseras av låg kappa-kaseinhalt och där koaguleringsförmågan kan åtgärdas genom tillsats av kalcium, i detta fall motsvarade 50 g CaCl₂ per 100 kg ystmjolk (att jämföra med de 5-20 g som normalt tillsätts samma mängd mjolk vid svenska ysterier).

NC II Dålig koagulerbarhet som inte visar samband med mjolkens kappa-kaseinhalt och där kalciumtillsats motsvarade 50 g CaCl₂ per 100 kg ystmjolk endast åstadkom marginell förbättring av koaguleringsförmågan. Celltalet var något förhöjt i NC II-mjölken från både de svenska och finska korna. Dessutom fanns flera indikationer på förhöjd proteolytisk aktivitet i mjolkproverna från den enda svenska kon som producerade NC II-mjolk.

Mot bakgrund av att den icke-koagulerande mjölken (NC II) inte tycks kunna åtgärdas med tillsats av kalcium, bör ytterligare analyser av faktorerna bakom uppkomsten av framförallt denna typ av koaguleringsstörningar vara angelägna.

Publicering

Resultaten från denna studie kommer att sammanställas i en publikation (Journal of Dairy Research), vilken kommer att ingå i Elin Halléns avhandling som den 5:e artikeln. Elin är för närvarande barnledig, men återkommer i verksamhet till sommaren för att avsluta doktorsarbetet.

Referenser

- Bordin, G., Raposo, F.C., de la Calle, B. & Rodriguez, A.R. (2001) Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. *J Chromatography A*. 928:63-76.
- Claesson, O. (1965) Studies on the variation of the rennin coagulation time of milk. *Lantbrukshögskolans Annaler* 31:237-332.
- Devold, T. (2004) Effect of milk protein polymorphism on protein composition in milk from Norwegian breed of dairy goat and Norwegian dairy cattle. Thesis. Scientific report 17, NLH, Ås
- Ekstrand, B., Larsson-Raznikiewitz, M. & Perlmann, C. (1980) Casein micelle size and composition related to the enzymatic coagulation process. *Biochim. Biophys. Acta* 630:361-366.
- Ekstrand, B., Larsson-Raznikiewitz, M., Brännäng, E. & Swensson, C. (1981) Size distribution of casein micelles related to coagulation properties. *Swedish J. agric. Res.* 11:57-61.
- Hallén, E., Allmere, T., Näslund, J., Andrén, A. & Lundén, A. 2007a. Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin induced milk gels. *Int. Dairy J.* 17:791-799

- Hallén, E., Wedholm, A., Andrén, A. & Lundén, A. 2007b. Effect of β -casein, κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants. *J Anim Breed Genet. In print*
- Ikonen, T., Ahlfors, K., Kempe, R. Ojala, M. & Ruottinen, O. (1999) Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of non-coagulating milk in Finnish dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:205-214.
- Ikonen, T., Morri, S., Tyrisevä, A.-M., Ruottinen, O. & Ojala, M. (2004) Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content and pH of milk. *J. Dairy Sci.* 87:458-467.
- Koestler, A.G. (1925) Different types of milk, their relation to the rennet, and their importance in cheesemaking. *J. Dairy Sci.* 8:28-36.
- Okigbo, L.M., Richardson, G.H., Brown, R.J. & Ernstrom, C.A. (1985a) Variation in coagulation properties of milk from individual cows. *J. Dairy Sci.* 68:822-828.
- Okigbo, L.M., Richardson, G.H., Brown, R.J. & Ernstrom, C.A. (1985b) Effects of pH, calcium chloride and chymosin concentration on coagulation properties of abnormal and normal milk. *J. Dairy Sci.* 68:2527-2533.
- Tyrisevä, A.-M., Ikonen, T. & Ojala, M. (2003) Repeatability estimates for milk coagulation traits and non-coagulation of milk in Finnish Ayrshire cows. *J. Dairy Res.* 70:91-98.
- Tyrisevä, A.-M., Vahlsten, T., Ruottinen, O. & Ojala, M. (2004) Noncoagulation of milk in Finnish Ayrshire and Holstein-Friesian cows and effect of herds on milk coagulation ability. *J. Dairy Sci.* 87:3958-3966.
- 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.