

## **Pasteurisering af råmælk/colostrum i drikkeklare portioner**

- **opgørelse af analyser på råmælk håndteret ved  
nyudviklet pasteuriseringsanlæg til råmælk**

Rapport udarbejdet af

Konsulent Malene Vesterager Laursen og  
Dyrlæge, ph.d Karen Helle Sloth

August 2009

## Sammendrag

Formålet med denne rapport er at klarlægge om pasteurisering af råmælk fra køer kan pasteuriseres ved 60° C, uden at medføre betydelig reduktion i råmælkens gavnlige immunoglobuliner og forøgelse af råmælkens viskositet. Der blev i projektet udført afprøvninger af det til formålet udviklede pasteuriseringsanlæg med henblik på temperaturmålinger og analyser af råmælken før og efter pasteurisering. Afprøvningerne skal belyse pasteuriseringens konsekvenser for råmælkens bakterier, immunoglobuliner og viskositet.

Følgende afsnit angiver resultaterne fra disse afprøvninger, samt konklusion på baggrund af disse resultater.

### Temperatur

Temperaturmålinger i hhv. råmælk og vandbad viste at pasteuriseringsanlægget kan opretholde en konstant temperatur på 60° C med svingninger på op til 0,5 grader. Dette anses for værende tilstrækkeligt præcist til formålet. Råmælkens temperatur følger vandets temperatur med 1-2 minutters forsinkelse, hvilket betyder at der skal tages højde for det i programudviklingen på anlægget. Opvarmnings- og evt. nedkølingstid afhænger af, hvordan landmanden ønsker at bruge anlægget.

- Den korteste opvarmningstid opnås ved kombinationen varmt vand og friskt udmalket råmælk. Her er opvarmningstiden til 60° C kun omkring 15-19 minutter. Det betyder at landmanden skal fylde anlægget med varmt vand, eller lade det være tændt hele tiden lige som ColoQuick anlægget, og pasteurisere den friskt udmalkede råmælk med det samme.
- Grundet forsinkelsen på opnåelse af samme temperatur på vand og råmælk på ca. 2 min, anbefales det at pasteuriseringsprogrammet tillægges to min til den planlagte pasteuriseringstid.
- Nedkøling af råmælken til udfodringstemperatur tager ca. 14 min. Igen er der en forsinkelse på råmælkens temperatur i forhold til vandets temperatur på 1-2½ min. Det anbefales at pasteuriseringsanlægget kan indstilles til et maksimum-tid, hvor råmælkens temperatur holdes ved 38° C, af hensyn til mindst mulig bakterieudvikling. Eksempelvis max ½ time.

### Programudvikling

Programmets varighed afhænger af hvornår landmanden vælger at pasteurisere råmælken, fra frosset tilstand, kølet eller friskt udmalket. Det afhænger desuden af om anlægget vand holdes på en konstant temperatur eller om det slukkes mellem hver pasteurisering, således at vandet køles ned til den omgivelsernes temperatur. Dette afhænger sandsynligvis af hvor mange køer landmanden har og dermed hvor ofte anlægget er i brug.

- Landmanden pasteuriserer umiddelbart inden udfodring. Denne metode kræver at anlægget har indrettet en funktion som nedkøler råmælken til udfodringstemperatur umiddelbart efter pasteurisering. Denne metode medfører at processen tager længere tid, men sikrer også at råmælkens tilbageværende bakterier har ringest vækstvilkår og dermed kun kan formere sig minimalt. Desuden kan processen sættes i gang umiddelbart efter at koen har kælvet og dermed stadig opnå tildeling af råmælk til kalven indenfor to timer efter fødslen.
- Landmanden pasteuriserer umiddelbart efter udmalkning og lægger derefter råmælken i fryseren. Her bør der indrettes en funktion som sikrer at landmanden kan tage kassetten op af vandet uden at berøre det 60° C varme vand med fingrene. Det kan f.eks. ske ved at lukke en del af vandet ud efter pasteuriseringen er tilendebragt. Det skal dog gøres opmærksom på at denne metode giver anledning til bakterievækst fra de tilbageværende bakterier både under nedfrysning og under opvarmning til udfodring af råmælken.

### Bakteriereduktion, immunoglobulin og viskositet

På baggrund af analyser på råmælken før pasteurisering og under pasteurisering (hhv. efter 15, 30, 45, 60 og 120 minutter) kan følgende konkluderes.

- Pasteurisering i 15 min reducerer antallet af coliforme kim til under 10 kim/ml fra de udgangsniveauer der blev undersøgt.
- Pasteurisering i 60 min vil med stor sandsynlighed nedbringe antallet af totalkim til under den anbefalede øvre grænse på 100.000 kim/ml.
- Ved pasteurisering af råmælk i op til 120 min, kan der ikke påvises en reduktion i råmælkens indhold af immunoglobuliner – der var dog tendens til en lille reduktion. Test af kalves serum immunoglobulin indhold vil kunne verificere dette resultat, idet laboratorieanalysen til bestemmelse af immunoglobulin indholdet er forbundet med en vis usikkerhed.

- Pasteurisering i op til 120 min medfører en stigning i råmælkens viskositet. Stigningen er størst ved råmælk med et højt immunoglobulin indhold. Stigningen i viskositeten anses dog ikke for værende et problem i forhold til udfodring af råmælken og renholdelse af redskaber som er i kontakt med råmælken – idet ændringen i viskositeten ikke er synlig med det blotte øje.

I denne undersøgelse var udgangsniveauet for totalkim indhold i råmælken meget højt. Det er derfor muligt at pasteurisering i kortere tid, vil kunne nedbringe totalkim indholdet til under den anbefalede grænse på 100.000 kim/ml, allerede efter 30 eller 45 minutters pasteurisering. Men da det ikke er muligt at foretage en hurtigbestemmelse af råmælkens totalkim indhold, vil der ved pasteurisering i 60 minutter være størst sandsynlighed for at råmælken har et totalkim indhold under 100.000 kim/ml.

Det skal fastslås, at pasteurisering ikke betyder at hygiejnisk håndtering af råmælken inden og efter pasteurisering er overflødig. Råmælkens indhold af de tilbageværende kim kan stadig formere sig under gunstige vækstbetingelser, som eksempelvis opvarmning efter pasteurisering og nedfrysning af råmælken.

### **Pasteuriseringsvarighed**

Denne undersøgelse viser, i overensstemmelse med andre videnskabelige undersøgelser, at pasteurisering af råmælk ved 60 ° C har minimal indvirkning på råmælkens immunoglobuliner og viskositet, men er effektiv i reduktion af bakterier såsom coliforme kim og totalkim. På baggrund af analyserne på råmælken anbefales det at pasteurisere råmælk i **60 minutter** for at øge sandsynligheden for at antallet af bakterier opnår et minimum. Specielt hvis råmælken ikke udfodres umiddelbart efter pasteurisering. Det anbefales at bruge råmælk med et immunoglobulin indhold over 50 mg/ml.

I denne undersøgelse er der ikke undersøgt pasteuriseringens evne til at reducere antallet af paratuberkulose og Salmonella dublin bakterier, idet metoderne til undersøgelse af dette, er utilstrækkelige. I stedet henvises der til andre videnskabelige undersøgelser (Godden *et al.*, 2006) som anser 60 minutters pasteurisering ved 60 ° C for tilstrækkeligt til at kunne reducere antallet af paratuberkulose bakterier til et minimum. Det anbefales dog på baggrund af de manglende resultater at konkludere ud fra, at kvægbrugeren stadig følger de opstillede retningslinjer med henblik på frasortering af råmælk fra køer som sandsynligvis udskiller disse bakterier igennem gødningen, og dermed risikerer at overføre bakterierne til råmælken.

Erfaringer fra tidligere og nuværende projekt antyder, at stort set alt råmælk har et totalkim indhold over den anbefalede grænse på 100.000 kim/ml. Det leder frem til en konklusion om at råmælk fra køer, som sandsynligvis ikke udskiller Salmonella dublin og paratuberkulose bakterier med fordel kan pasteuriseres. Det bevirker at der er langt større sikkerhed for at råmælkens totalkim og coliforme kim indhold er under den anbefalede øvre grænse på hhv. 100.000 og 10.000 kim/ml. Dette vil ifølge flere videnskabelige kilder ikke blot mindske risikoen for at kalven bliver syg, men også have en positiv effekt på effektiviteten af optagelsen af immunoglobuliner.

## Formål

Formålet med nærværende rapport er at klarlægge om pasteurisering af råmælk fra kvæg ved 60° C kan eliminere sygdomsfremkaldende kim, og samtidig bibeholde råmælken gavnlige immunstoffer og fluiditet. Rapporten indledes med gennemgang af videnskabelige undersøgelser som kan understøtte de efterfølgende undersøgelser, af det til formålet fremstillede testudstyr til efterfølgende kommerciel brug. Efterfølgende gennemgår rapporten resultater fra projektets eksperimentelle undersøgelser, sammenholdt med det videnskabelige baggrundsmateriale. Kendskabet til pasteuriseringsanlæggets virkning på råmælken bakteriologiske og immunologiske udvikling, vil give grundlag for at afgøre om pasteuriseringsanlægget er brugbart, samt hvilke forbedringer pasteuriseringen af råmælken forventes at tilføre.

## Baggrund

### Immunisering af kalven

Nedbringelse af kalvedødeligheden i Danmark er et af de vigtige fokusområder for dansk kvægbrug, både af hensyn til landmandens økonomi, men også af hensyn til kvægbrugets image. En stor del (ca. 12 %) af kalvene dør inden de er 30 dage gamle (Skjøth & Fisker 2009). Dette skyldes i mange tilfælde at kalven bukker under for sygdom, i form af diarré eller lungebetændelse. Kalven fødes med et skrøbeligt immunforsvar og er derfor yderst afhængig af at få tilført livsvigtige antistoffer fra koen via den første råmælk. Antistofferne transporteres fra tarmen over i blodbanen, hvilket også kaldes passive transfer. Wells *et al.*, (1996) anslår at 31 % af de kalve som dør indenfor de første 3 ugers levetid skyldes mangel på passiv immunisering (failure of passive transfer). Denne undersøgelse er fra USA, men det samme vurderes at være gældende i Danmark.

Tildeling af råmælk i tilstrækkelige mængder (4 liter for tunge racer og 3 liter for Jersey), med et tilstrækkeligt indhold af immunoglobuliner (mindst 50 mg/ml), højst 6 timer efter fødslen, er derfor en vigtig faktor for at skærpe kalvens overlevelsessevner. Imidlertid kan kvaliteten af råmælken forringes, idet det viser sig at tilstedeværelse af bakterier i råmælken muligvis har en negativ indvirkning på absorptionen af de gavnlige antistoffer til blodbanen (James and Polan 1978; James *et al.*, 1981; Staley and Bush 1985). En undersøgelse fremlægger en hypotese, om at bakteriepatogenerne i kalvens fordøjelsessystem skal bindes til antistoffer, før der kan ske en absorption af den tilbageværende mængde af antistof som ikke er bundet til bakteriepatogener. Jo flere bakteriepatogener der tilføres kalvens fordøjelsessystem via råmælken, jo mindre antistof kan absorberes til blodbanen. En anden hypotese går på, at bakterierne bindes til de receptorer som optager antistof til blodet. Et højt indhold af bakterier i råmælken, vil derfor optage en stor del af receptorerne, hvilket vil vanskeliggøre optagelsen af antistoffet i blodbanen (Johnson *et al.*, 2007). Udover at udsætte kalven for større risiko for at blive syg af den tilførte råmælk, kan et højt indhold af bakterier i råmælken altså ligeledes have betydning for hvor godt kalven bliver immuniseret.

### Pasteurisering af råmælk

Pasteurisering er en opvarmningsproces som har til formål at dræbe sygdomsfremkaldende bakterier i f.eks. konsummælk. Konsummælk pasteuriseres ved 72° i 15 sekunder, hvorved stort set alle sygdomsfremkaldende bakterier dræbes (Anonym 2009). Pasteurisering af almindelig mælk til kalve kan foregå ved 65° i 30 min. Samme behandling af råmælk medfører imidlertid en betydelig reduktion i råmælken immunstoffer, samt en forringelse af råmælken fluiditet (se senere afsnit). Derimod har undersøgelser vist at en mere skånsom pasteurisering (ved 60° C) giver en minimal ændring af disse parametre, samtidig med at skadelige sygdomspatogener i råmælken slås ihjel (Godden *et al.*, 2006).

Pasteurisering af råmælk og dermed reduktion eller i bedste fald eliminering af sygdomsfremkaldende bakterier fra råmælken, kan dermed både direkte og indirekte medføre en skærpelse af kalvens immunforsvar og opstartsforhold. Forsøg med tildeling af pasteuriseret (60° C i 60 min) og upasteuriseret råmælk til to hold spædkalve viste, at pasteurisering af råmælken medførte en signifikant bedre serum IgG-koncentration som følge af en signifikant bedre absorption af IgG i helt op til 5 uger efter fødslen (Johnson *et al.*, 2007; Elizondo-Salazar & Heinrichs 2009). Derudover var der ingen forskel på kalvenes serum-koncentration af IgA, IgM, vitamin A, vitamin E, kolesterol, β-karoten og vitamin E:kolesterol ratio i forhold til kalvene fodret med upasteuriseret råmælk (Johnson *et al.*, 2007). Der er altså intet der tyder på at pasteurisering af råmælken ved 60° C har nogen skadelig virkning på ovennævnte stoffer. Spørgsmålet er om andre stoffer såsom hormoner og vækstfremmende stoffer der findes i råmælken, som er med til at fremme kalvens vækst og udvikling af mave-tarmsystemet, tager skade under pasteuriseringen. Elizondo-Salazar & Heinrichs (2009) har undersøgt om tilvæksten hos kalve fodret med hhv. upasteuriseret og pasteuriseret råmælk har nogen indvirkning på kalvenes tilvækst i de første 8 uger efter fødslen. Kalvenes tilvækst og optagelse af kalvefoder blev brugt som indikator for kalvens vækst og udvikling af mave-tarmsystem. Der viste sig ikke at være nogen signifikant forskel i vækst og optag af

kalvefoder i de første 8 uger af kalvenes tilvækst. Det tyder derved på, at pasteurisering ikke skader råmælkens hormoner og vækststoffer i en sådan grad at det går ud over kalvens vækst og udvikling. Hvorvidt der reelt set sker noget med hormoner og vækststoffer, bør under alle omstændigheder undersøges ved en kvantitativ bestemmelse af stofferne i råmælken hhv. før og efter pasteurisering.

### **Pasteuriseringens indflydelse på IgG og viskositet**

Forsøg med pasteurisering af råmælk ved de førnævnte metoder, hhv. 72° og 65°, har vist at råmælkens antistoffer denaturerer (dvs. tab af proteinets biologiske aktivitet) ved høj varme og at råmælkens viskositet øges. Nye metoder til pasteurisering af råmælk er derfor nødvendigt. Viskositet er betegnelsen for en væskes fluiditet eller konsistens. Bestemmelse af råmælkens viskositet er vigtig i sammenhæng med pasteurisering af råmælk, idet det er påvist at denaturering af proteiner i råmælken, som sker ved udsættelse for høje temperaturer, øger råmælkens viskositet betydeligt. I forhold til udfordring af råmælken er det et mindre problem, så længe råmælken er flydende og kan tildeles kalven gennem sut eller sonde. Øgning af råmælkens viskositet er derimod et større problem i forbindelse hygiejne omkring råmælkstildelingen. Når råmælkens viskositet øges bliver den mere klistret, hvilket betyder at renholdelse af redskaber, som er i kontakt med råmælken, vanskeliggøres. Dette kan give anledning til unødige bakterievækst på redskaberne og dermed kontaminering af den råmælk, som redskaberne kommer i kontakt med.

En amerikansk undersøgelse har gennemført pasteurisering af råmælk ved hhv. 59, 60, 61, 62 og 63 °C. Undersøgelsens resultater viser at pasteurisering ved en temperatur på 62° C eller derover har en skadelig effekt på råmælkens indhold af IgG, idet IgG-indholdet bliver signifikant reduceret efter pasteurisering (McMartin *et al.*, 2006). Samme undersøgelse fandt, at pasteurisering ved 61° C eller højere temperaturer giver en signifikant forøgelse af råmælkens viskositet. Godden *et al.*, (2006) gennemførte en undersøgelse hvor råmælk blev pasteuriseret ved 60° C i 120 min. Her viste resultaterne ingen signifikant ændring var i det gennemsnitlige IgG-indhold i råmælk før og efter pasteurisering (reduktion på 2,2 %). Det samme var gældende i en undersøgelse, hvor råmælken blev pasteuriseret ved 60° C i 60 min (Johnson *et al.*, 2007). Flere undersøgelser tyder dog på at reduktionen i råmælkens IgG-indhold, når den udsættes for pasteurisering, er større, jo højere IgG-indholdet i råmælken er (Meylan *et al.*, 1996; McMartin *et al.*, 2006). Reduktionen af IgG-indholdet formindskes dog ved faldene temperaturer.

Flere undersøgelser peger således på, at råmælk kan pasteuriseres ved 60° i 60-120 min, uden at der sker en betydelig reduktion i råmælkens IgG indhold. Samtidig opleves kun en lille forøgelse i råmælkens viskositet. Derudover tyder undersøgelser på at der ikke sker drastiske ændringer i råmælkens indhold af andre gavnlige stoffer, såsom vitaminer og hormoner.

### **Bakterier**

Formålet med pasteuriseringen af råmælken er at dræbe de skadelige sygdomsbakterier som findes i råmælken. Det skal forhindre kalven i at blive inficeret med bakterier, som kan forårsage diarré, lungebetændelse eller andre sundhedsreducerende lidelser som overføres via råmælken. Kalve som i en tidlig alder lider af sygdomme, får en dårlig start på opvæksten. I mange tilfælde kan det medføre at den som kvie er sat bagud i vækst. Opnåelse af en lav kælvningsalder, minimale antal foderdage og dermed opnåelse af omkostningsreduktion vanskeliggøres dermed. Pasteurisering har også til formål at eliminere bakterier som kan medføre at kalven senere i livet kan udvikle en produktions- og velfærdsnedsættende sygdom, eller videregive smitte af denne sygdom. Disse bakterier kan være paratuberkulose eller Salmonella dublin. Derudover er det en fordel at råmælken generelt indeholder et lavt kimindhold, idet det fremmer optagelsen af de gavnlige immunoglobuliner.

Godden *et al.*, (2006) har undersøgt effekten af at pasteurisere råmælk ved 60° C i 120 min på bakterier såsom paratuberkulose, Mycoplasma bovis, Listeria monocytogenes, E-coli og Salmonella enteritidis. De blev udtaget prøver undervejs med 15 min mellemrum, for at fastslå hvornår de enkelte bakterier er blevet dræbt. Efter 30 min fandtes der ingen vækst af M. bovis, L. monocytogenes, E-coli eller S. enteritidis bakterier. Efter 60 minutters pasteuriseringen fandtes ingen vækst af paratuberkulose bakterier. I dette forsøg blev råmælken podet med der forskellige sygdomskim, umiddelbart inden råmælken blev pasteuriseret. Koncentrationen af bakterier må derfor anses for værende betydelig højere, end den koncentration som kan genfindes i upodet råmælk. Koncentrationen af paratuberkulose i den podede råmælk var f.eks.  $10^3$  cfu/ml. Set i forhold til dette, er koncentrationen af paratuberkulose fra en ko som udskiller bakterierne i råmælken, i størrelsesordenen 5-8 cfu/ml (Goden *et al.*, 2006).

Med henblik på identifikation og kvantificering af Salmonella dublin bakterier blev der i et dansk studie udtaget råmælksprøver fra 100 nykælvere som var inficeret med Salmonella dublin. Resultater viste at der i ingen af prøverne kunne genfindes en målbar koncentration af bakterien. Det betyder at udskillelsen af bakterien fortrinsvist sker gennem gødning. I det førnævnte studie blev råmælken

podet med Salmonella enteritidis i en koncentration på  $10^6$  cfu/ml. Ved denne koncentration var det således ikke muligt at genfinde disse bakterier efter pasteurisering ved  $60^\circ$  i 30 min. Det må derfor forventes at pasteurisering ved  $60^\circ$  i 30 min ligeledes er i stand til at eliminere Salmonella bakterier i mindre koncentrationer, men nærmere undersøgelse kræves for at fastslå dette.

## Testdesign og metode

Dette projekt har bl.a. til hensigt at teste stabilitet, samt evne til at pasteurisere råmælk effektivt men skånsomt, i et kommercielt udviklet pasteuriseringsanlæg til råmælk. Konceptet er en videreudvikling af en foregående model til opvarmning af råmælk i drikkeklare portioner.

Pasteuriseringsanlægget er udviklet til at pasteurisere en kassette med råmælk ved 60 °C. Formålet med test af råmælken temperatur i pasteuriseringsanlægget, er at sikre at råmælken har en temperatur på 60 °C i hele pasteuriseringsforløbet, som muligvis kan vare helt op til 2 timer. Testen skal sikre at råmælken opnår den mest skånsomme pasteurisering, som giver anledning til minimal denaturering af råmælken immunoglobuliner og opretholdelse af en forholdsvis normal viskositet. Samtidig skal der være sikkerhed for, at anlægget kan opretholde en stabil temperatur på 60 °C i hele pasteuriseringsforløbet, således at der er grundlag for at slå så mange bakterier ihjel som muligt. Derudover skal testen fastslå, hvor lang tid råmælken skal ligge i vandbadet, før det har opnået en temperatur på 60 °C fra forskellige opstartstemperaturer af hhv. råmælk og vandbad. Det forventes at råmælken IgG-indhold har betydning for hvor lang tid det tager før råmælken har opnået en temperatur på 60 °C. Det er således formålet at temperaturtesten udføres med råmælk af forskellig immunologisk kvalitet, hvor råmælken IgG-indhold under alle omstændigheder er over 50 mg/ml, som er den nederste grænse for hvilket IgG-indhold landmænd rådes til at tildele spædkalve.

## Temperaturtest

Test af temperaturen i råmælken har til formål at klarlægge:

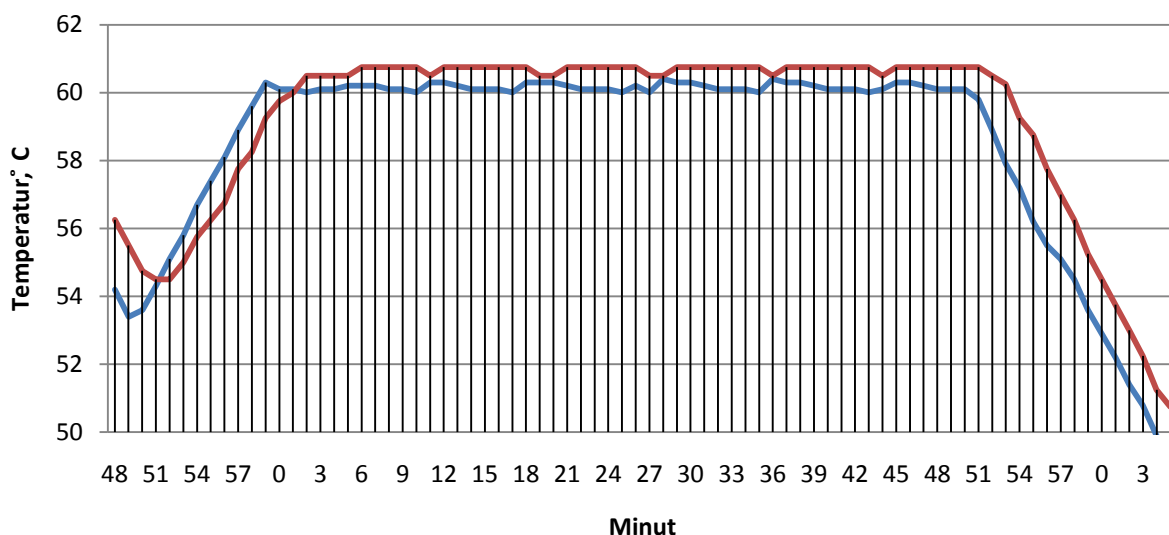
- Om pasteuriseringsanlægget er i stand til at opretholde en stabil temperatur på 60 °C i op til 120 min.
- Hvor lang tid det tager fra vandet i pasteuriseringsanlægget er 60 °C til råmælken i posen har en temperatur på 60 °C alt afhængig af udgangspunktet for temperaturen i råmælk og vand.
- Hvor stor forskel er der på råmælk med hhv. højt og lavt IgG-indhold/vægtfylde.

I pilottesten blev der brugt 11 kassetter med råmælk af varierende IgG-indhold, hvor der ses bort fra testresultaterne fra et af forsøgene, da temperatursvingerne var for store, grundet utæthed i reguleringshanen som lukker det varme vand ud. Pasteuriseringsanlæggets vandtemperatur blev logget hvert 10. sekund, mens råmælken temperatur blev logget hvert minut. Der blev i forbindelse med test af forsinkelsen på opnåelse af samme temperatur i råmælken som i vandet, afprøvet med både 1 og 2 kassetter i pasteuriseringsanlægget. Dette er gennemført for at klarlægge en eventuel forskel på forsinkelsen af temperaturopnåelsen på 60 °C.

Der tages udgangspunkt i 2 forskellige vandtemperaturer, omkring 20 °C, som er temperaturen på vand fra den kolde hane, og omkring 50 °C, som er temperaturen på vand som kommer fra den varme hane (muligvis er vandet endnu varmere hos de enkelte landmænd, men er vandet over 50 °C er det ikke muligt at fastlåse kassetten i pasteuriseringsanlægget, da vandet er for varmt). For råmælkstemperaturen tages der udgangspunkt i tre temperaturniveauer. Køleskabstemperatur på omkring 0-5 °C, temperatur, ved omkring 20 °C og udmalkningstemperatur på omkring 35-38 °C. Temperaturniveauerne for hhv. vand og råmælk kombineres, således at flest mulige kombinationer afprøves. Dette sker for at finde frem til hvor lang tid der går fra kassetten er sat i pasteuriseringsanlægget til råmælken har opnået en temperatur på 60 °C. Derudover følges nedkølingen af råmælken også for ca. det halve af afprøvningerne. Det skyldes at det vurderes at blive en mulighed, at landmanden vælger at køle råmælken ned til udfodringstemperatur umiddelbart efter endt pasteurisering. Temperaturtesten har ligeledes til formål at afklare om pasteuriseringsanlægget kan opretholde en konstant temperatur i op til 120 min minutter, hvilket afklares ved at lade anlægget pasteurisere i 120 min.

## Resultater for temperaturtesten

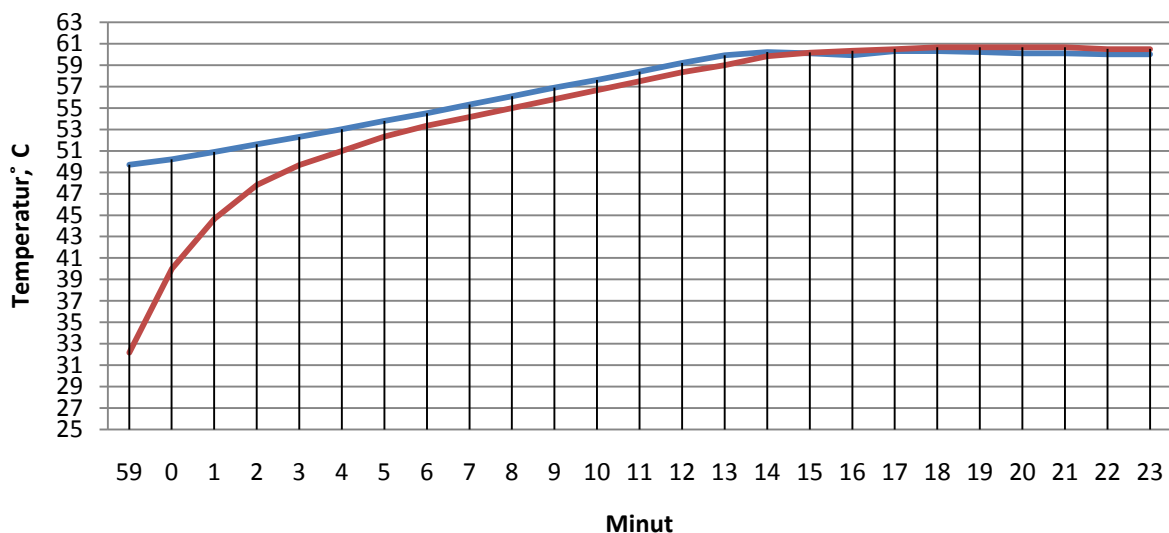
Følgende afsnit gennemgår hver enkelt afprøvning, og afsluttes med en opsamling af konklusionerne på temperaturtesten på pasteuriseringsanlægget. Dette leder til anbefalinger for programudvikling for pasteuriseringsanlægget.



Figur 1. Temperaturudvikling for hhv. vand (blå) og råmælk (rød) ved en starttemperatur for hhv. vand og råmælk på 54,2 og 56,3° C (Dette er et mindre repræsentativt forsøg – det var ikke forventet at råmælkstemperaturen var højere end vandtemperaturen)

### Temperaturudvikling

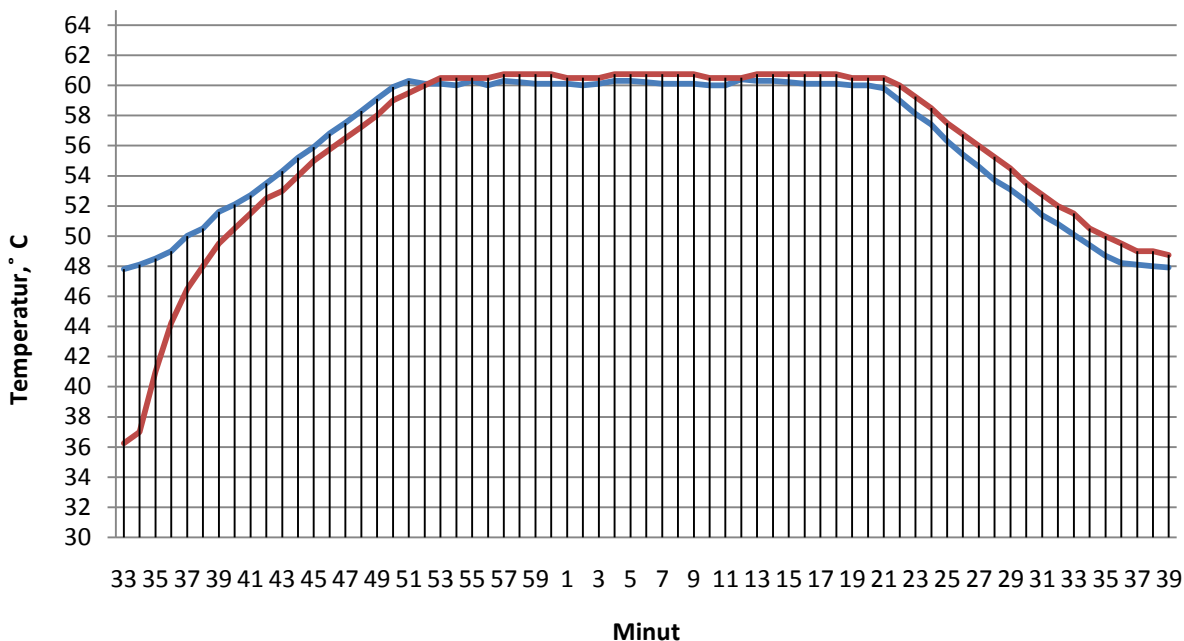
- Idet vandtemperaturen er koldere end råmælkstemperaturen falder råmælkstemperaturen indtil vandet opnår samme temperatur som råmælken.
- Både vand- og råmælkstemperaturen falder som følge af start af pasteuriseringsprogram, hvor pasteuriseringsanlægget først lukker koldt vand ind, og derefter påbegynder opvarmning.
- Der er en forsinkelse på opnåelse af den samme temperatur i råmælken som i vandet på ca. 1-2 min.
- Der går 13 min inden råmælken opnår en temperatur på 60° C.
- Når råmælken har opnået en temperatur på 60° C ligger råmælkstemperaturen generelt ca. 0,5 ° C højere end vandets temperatur. Dette kan sandsynligvis skyldes at temperaturloggeren som måler råmælkens temperatur kun har en følsomhed på 0,5. Er temperaturen f. eks. 60, 3 vil den runde op til 60,5, hvilket samlet set gør at temperaturen generelt ligger lidt højere for råmælken i forhold til vandtemperaturen.
- Pasteuriseringsanlægget viser sig at være i stand til at opretholde en temperatur på 60° C – temperaturen kommer på intet tidspunkt under 60° C.
- Under afkøling er der igen en forsinkelse på råmælkstemperaturen på ca. 2-2½ min. Vandet og råmælken nedkøles ca. 1 grad pr. 1-1½ min.



Figur 2. Temperaturudvikling for hhv. vand (blå) og råmælk (rød) ved en starttemperatur for hhv. vand og råmælk på 49,7 og 32,2° C

### Temperaturudvikling

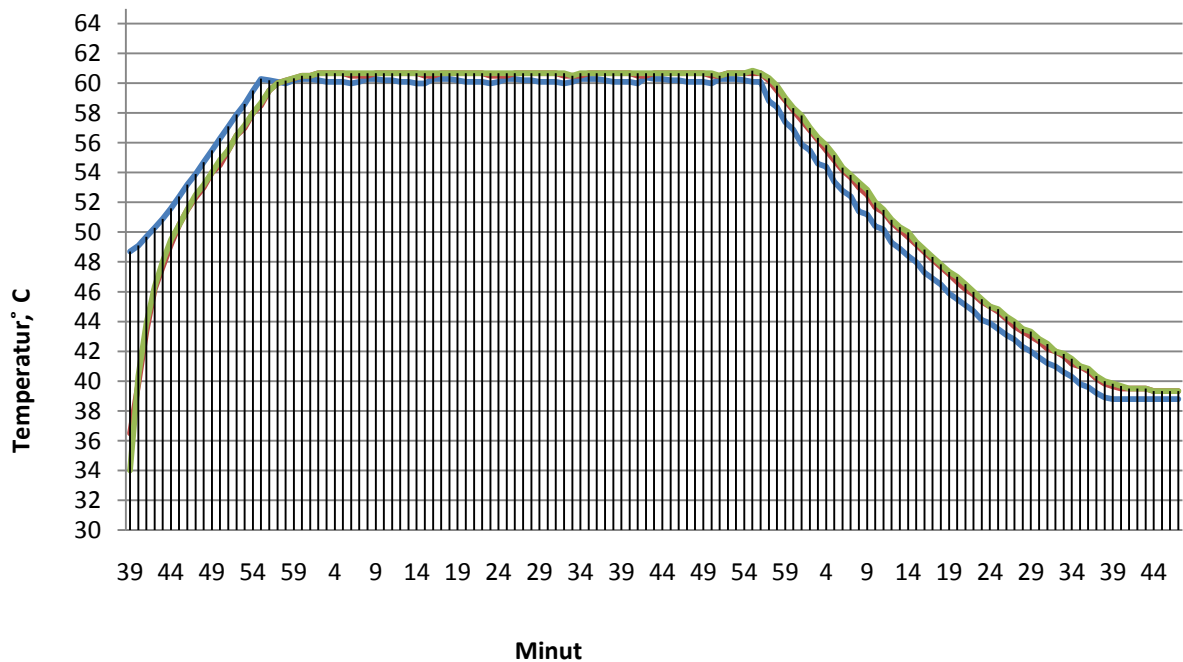
- Der sker en drastisk stigning i råmælksens temperatur efter nedsækning i det varme vand. Efter 7 min med en kraftig stigning i råmælkstemperaturen følger råmælkstemperaturen stigningen i vandtemperaturen med ca. 1-1½ min forsinkelse.
- Der går ca. 15 min inden råmælken har en temperatur på 60 ° C. Når råmælken har opnået en temperatur på 60 ° C ligger råmælkstemperaturen generelt ca. 0,2-0,5 ° C højere end vandets temperatur. Dette skyldes sandsynligvis temperaturloggerens lille sensitivitet på 0,5 ° C.
- Pasteuriseringsanlægget viser sig at være i stand til at opretholde en temperatur på 60 ° C – temperaturen kommer kun ved en enkelt måling ned på 59,9 ° C og dette medvirker ikke til at råmælksens temperatur kommer under 60°C.



Figur 3. Temperaturudvikling for hhv. vand (blå) og råmælk (rød) ved en starttemperatur for hhv. vand og råmælk på 47,8 og 36,3° C

### Temperaturudvikling

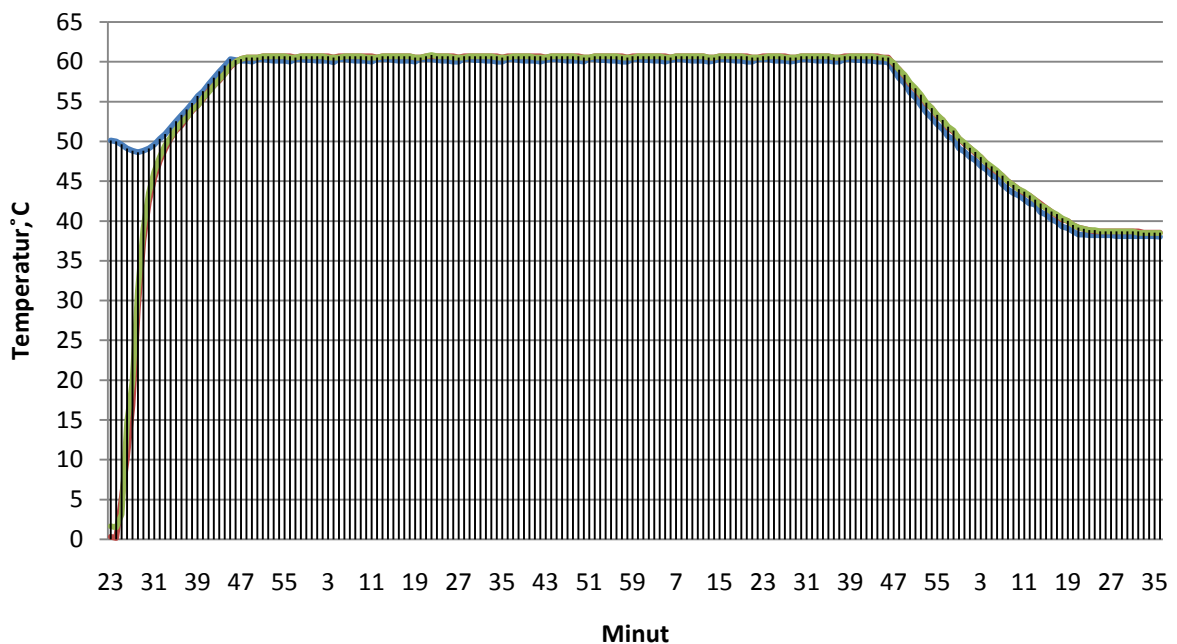
- Der sker en drastisk stigning i råmælksens temperatur efter nedsækning i det varme vand. Efter 8 min med en kraftig stigning i råmælkstemperaturen følger råmælkstemperaturen stigningen i vandtemperaturen med ca. 1-2 min forsinkelse.
- Der går ca. 19 min før råmælken har en temperatur på 60 ° C. Når råmælken har opnået en temperatur på 60 ° C ligger råmælkstemperaturen generelt ca. 0,2-0,5 ° C højere end vandets temperatur. Dette skyldes sandsynligvis temperaturloggerens lille sensitivitet på 0,5 ° C.
- Pasteuriseringsanlægget viser sig at være i stand til at opretholde en temperatur på 60 ° C – temperaturen kommer på intet tidspunkt under 60 ° C.
- Under afkøling er der igen en forsinkelse på råmælkstemperaturen på ca. 1½-2 min. Vandet og råmælken afkøles ca. 1 grad på 2-2½ min.



Figur 4. Temperaturudvikling for hhv. vand (blå) og råmælk 1 (rød) og råmælk 2 (grøn) ved en starttemperatur for vand og råmælk på 48,7 og hhv. 36,5 og 34,0° C

#### Temperaturudvikling

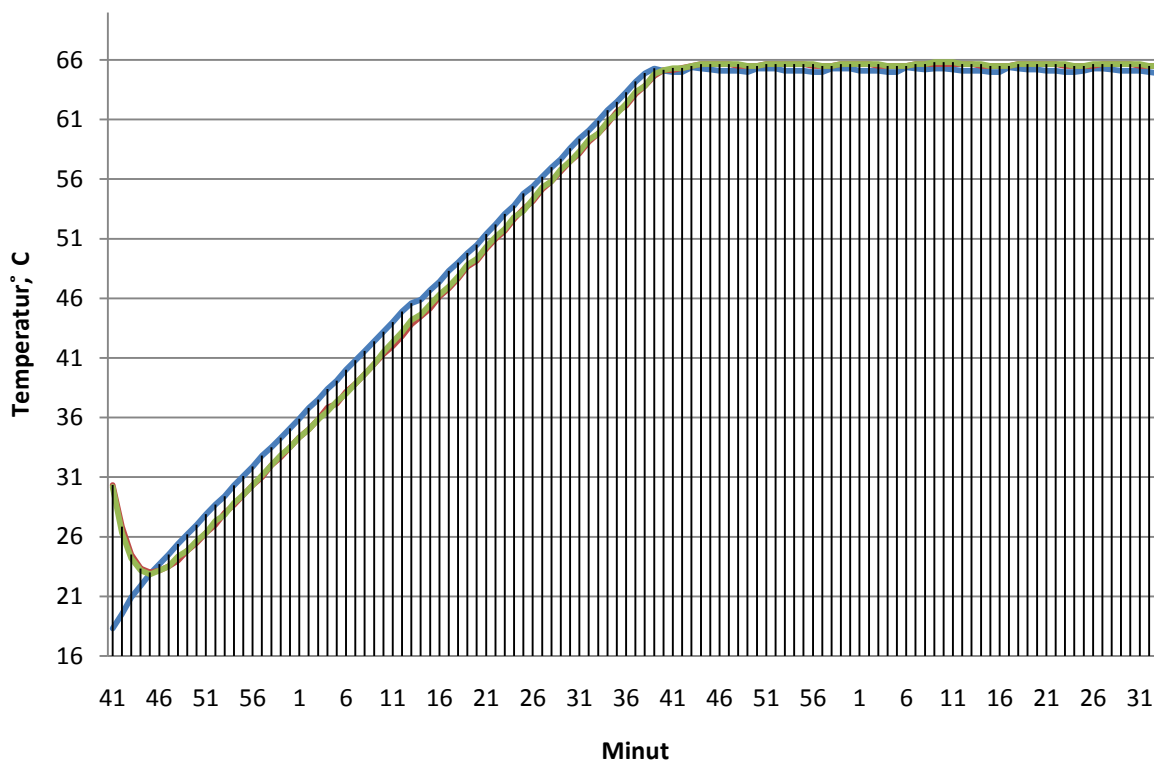
- Igen sker der en drastisk stigning i råmælksens temperatur efter nedsænkning i det varme vand. Efter 7 min med en kraftig stigning i råmælkstemperaturen følger råmælkstemperaturen stigningen i vandtemperaturen med ca. 1-2 min forsinkelse.
- Der går ca. 19 min inden råmælken har en temperatur på 60 ° C. Når råmælken har opnået en temperatur på 60 ° C ligger råmælkstemperaturen generelt ca. 0,2-0,5 ° C højere end vandets temperatur. Dette skyldes sandsynligvis temperaturloggerens lille sensitivitet på 0,5° C.
- Pasteuriseringsanlægget viser sig at være i stand til at opretholde en temperatur på 60 ° C i 60 min – temperaturen kommer på intet tidspunkt under 60 ° C under hele pasteuriseringsprocessen.
- Under afkøling er der igen en forsinkelse på råmælkstemperaturen på ca. 1½-2 min. Vandet og råmælken afkøles ca. 1 grad på 2-2½ min.



Figur 5. Temperaturudvikling for hhv. vand (blå) og råmælk 1 (rød) og råmælk 2 (grøn) ved en starttemperatur for vand og råmælk på 50,1 og hhv. 0,3 og 1,7° C

### Temperaturudvikling

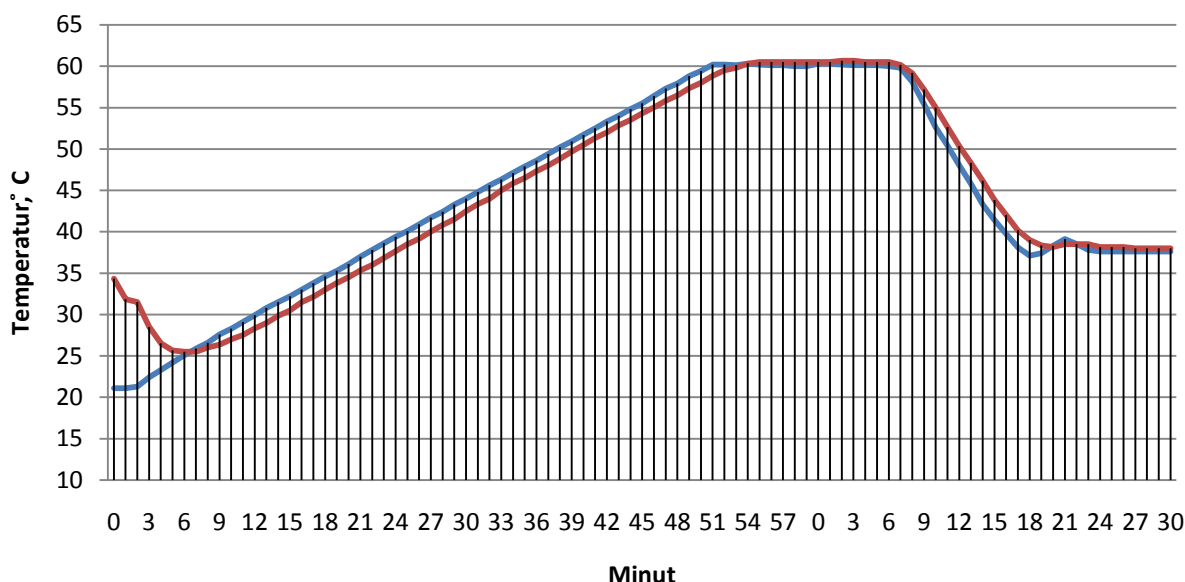
- Igen sker der en drastisk stigning i råmælkenes temperatur efter nedsækning i det varme vand. Efter 11 min med en kraftig stigning i råmælkstemperaturen følger råmælkstemperaturen stigningen i vandtemperaturen med ca. 1-1½ min forsinkelse.
- Der går ca. 24 min før råmælken har en temperatur på 60 °C. Når råmælken har opnået en temperatur på 60 °C ligger råmælkstemperaturen generelt ca. 0,2-0,5 °C højere end vandets temperatur. Dette skyldes sandsynligvis temperaturloggerens lille sensitivitet på 0,5 °C.
- Pasteuriseringsanlægget viser sig at være i stand til at opretholde en temperatur på 60 °C i 120 min – temperaturen kommer på intet tidspunkt under 60 °C under hele pasteuriseringsprocessen.
- Under afkøling er der igen en forsinkelse på råmælkstemperaturen på ca. 1½-2 min. Der sker en nedkøling på 1 grad på ca. 2-3 min.



Figur 6. Temperaturudvikling for hhv. vand (blå) og råmælk 1 (rød) og råmælk 2 (grøn) ved en starttemperatur for vand og råmælk på 18,3 og hhv. 28,8 og 27,8° C. I dette forsøg pasteuriseres der ved 65°C.

### Temperaturudvikling

- I dette tilfælde er råmælkstemperaturen højere end vandtemperaturen. Efter 4 min er vandtemperaturen lig med råmælkstemperaturen. Nedsækningen af det varme råmælk i det koldere vand, får råmælkstemperaturen til at falde med 7 °C. Herefter begynder temperaturen i både vand og råmælk at stige ca. 1 grad pr. minut. Råmælkstemperaturen stiger med samme styrke som vandtemperaturen blot med ca. 1-1½ min forsinkelse. Når råmælken har opnået en temperatur på 65 °C ligger råmælkstemperaturen generelt ca. 0,2-0,5 °C højere end vandets temperatur. Dette skyldes sandsynligvis temperaturloggerens lille sensitivitet på 0,5 °C.
- Det tager 52 min før råmælkstemperaturen opnår en temperatur på 60 °C.
- Pasteuriseringsanlægget viser sig at være i stand til at opretholde en temperatur på 65 °C. Temperaturen kommer på intet tidspunkt under 65 °C under hele pasteuriseringsprocessen.



Figur 7. Temperaturudvikling for hhv. vand (blå) og råmælk (rød) ved en starttemperatur for hhv. vand og råmælk på 21,1 og 34,3° C

### Temperaturudvikling

- I dette tilfælde er råmælkstemperaturen igen højere end vandtemperaturen. Efter 8 min er vandtemperaturen lig med råmælkstemperaturen. Nedsænkningen af det varme råmælk i det koldere vand, får råmælkstemperaturen til at falde med ca. 9 ° C. Herefter begynder temperaturen i både vand og råmælk at stige ca. 0,8-1 grad pr. minut. Råmælkstemperaturen stiger med samme styrke som vandtemperaturen blot med ca. 1-1½ min forsinkelse. Når råmælken har opnået en temperatur på 60 ° C ligger råmælkstemperaturen generelt ca. 0,2-0,5 ° C højere end vandets temperatur. Dette skyldes sandsynligvis temperaturloggerens lille sensitivitet på 0,5 ° C.
- Det tager 53 min før råmælken opnår en temperatur på 60 ° C.
- Pasteuriseringsanlægget viser sig at være i stand til at opretholde en temperatur på 60 ° C. Temperaturen kommer på intet tidspunkt under 60 ° C under hele pasteuriseringsprocessen.
- Under afkøling er der igen en forsinkelse på råmælkstemperaturen på ca. 1-1½ min. Der sker en nedkøling på 1 grad på ca. ½ min. Den hurtigere nedkøling skyldes udskiftning af hanen som lukker vandet ud. Derfor er der en større udskiftning af det varme vand med koldt vand.

## Konklusion på temperaturtest

### Generelt

- Under opvarmning følger råmælken vandets temperaturudvikling, blot med en forsinkelse på 1-2 minutter.
- Råmælkens temperatur er generelt målt til at være ca. 0,2 -0,5 ° C højere end vandtemperaturen. Årsagen forventes at være temperaturloggeren, som kun har en sensitivitet på 0,5 ° C. Temperaturen vil således blive rundet op til 60,5 ° C så snart temperaturen er over 60,0 ° C, hvilket vandtemperaturen stort set er hele tiden. I realiteten forventes det at råmælken har den samme temperatur som vandet, blot med en forsinkelse på 1-2 min i vandtemperaturens svingninger.
- Vandtemperaturen varierer med op til 0,5 ° C under pasteuriseringsprocessen. I meget få tilfælde har vandtemperaturen været under 60 ° C (59,9). Og denne temperatur er kun registreret i ca. 10 sekunder hvorefter temperaturen igen er på 60 ° C. Det højeste pasteuriseringstemperaturen når op på, er 60,4 ° C og højst i 10 sekunder. Det kan således konkluderes at pasteuriseringsanlæggets evne til at opretholde en stabil temperatur på 60 ° C er tilstrækkelig. Yderligere udvikling af temperaturreguleringen, med indbygget historik, forventes yderligere at forbedre pasteuriseringsanlæggets evne til at opretholde en stabil pasteuriseringstemperatur.
- Pasteuriseringsanlæggets programmeringsfunktion er præcis. Den opretholder en stabil pasteuriseringstemperatur i det indtastede antal minutter. Dog er anlægget kun i stand til at pasteurisere i 99 min. Skal der pasteuriseres i længere tid skal et nyt program indtastes. Den bakteriologiske test skal afgøre om det er nødvendigt at ændre programmeringen, hvis der viser sig at være behov for at pasteurisere i 120 min.
- Nedkøling af råmælken følger ligeledes vandtemperaturen, med en forsinkelse på 1-2½ min. Efter udskiftning af hanen til at lukke vand ud, går nedkølingen hurtigere, dvs. 1 grad på ½-1 min.
- Opvarmningstiden afhænger af udgangspunktet for hhv. vand- og råmælkstemperaturen.
- Følsomheden på opretholdelse af temperaturen, når råmælken er kølet ned til udfodringstemperatur, er på ca. 5 ° C. Det anbefales at denne følsomhed justeres til at kunne svinge med ca. 1 grad.

### Temperatur

Varmt vand (ca. 50 ° C) og frisk udmalket råmælk (ca. 30-35 ° C)

- Opvarmningstiden for denne kombination er ca. 15-19 min alt afhængig af den præcise vand- og råmælkstemperatur.

Varmt vand (ca. 50 ° C) og koldt råmælk (ca. 1-3 ° C)

- Opvarmningstiden for denne kombination er ca. 24 min – for to kassetter. Det forventes at opvarmning af kun én kassette vil afkorte opvarmningstiden med et par minutter.

Koldt vand (ca. 18 ° C) og friskt udmalket råmælk (ca. 30 ° C)

- Opvarmningstiden for denne kombination er ca. 52 min – for to kassetter og 52 min for én kassette, alt afhængig af den præcise vand- og råmælkstemperatur.

Varmt vand (ca. 48 ° C) og frosset råmælk (ca. -18 ° C)

- Her bruges erfaringerne fra sidste års projekt som viser at opvarmningstiden for denne kombination er ca. 25-35 min.

Koldt vand (ca. 25 ° C) og koldt råmælk (ca. 10 ° C)

- Forsøget som angiver data til denne kombination mislykkes pga. problemer med tillukning af hanen som lukker vand ud. Men resultaterne antyder at opvarmningstiden for denne kombination er ca. 50 min.

Betydning af IgG-indhold i råmælk på opvarmningstid.

- Det var ikke muligt at fastslå en egentlig forskel i opvarmningstid afhængig af IgG-indhold i råmælken, både på grund af for få gentagelser og for lille variation i råmælkens IgG-indhold.

### Anbefalinger til programudvikling baseret på temperaturmålinger

- Langt den korteste opvarmningstid opnås ved kombinationen varmt vand og friskt udmalket råmælk. Her er opvarmningstiden til 60 ° C kun omkring 15-19 minutter. Det betyder at landmanden skal fylde anlægget med varmt vand, eller lade det være tændt hele tiden lige som ColoQuick anlægget, og pasteurisere den friskt udmalkede råmælk med det samme.

- Grundet forsinkelsen på opnåelse af samme temperatur på vand og råmælk på ca. 2 min, anbefales det at pasteuriseringsprogrammet tillægges to min til den planlagte pasteuriseringstid.
- Nedkøling af råmælken til udfodringstemperatur tager ca. 14 min. Igen er der en forsinkelse på råmælkens temperatur i forhold til vandets temperatur på 1-2½ min. Det anbefales at pasteuriseringsanlægget kan indstilles til et maksimum-tid, hvor råmælkens temperatur holdes ved 38 °C, af hensyn til mindst mulig bakterieudvikling. Eksempelvis max ½ time.

## Test af bakteriologi, immunologi og viskositet

Pasteurisering af råmælk har til formål at eliminere skadelige sygdomsbakterier, uden at gå på kompromis med råmælkenes immunologi og viskositet. Den anden del af testarbejdet skal klarlægge hvordan pasteuriseringsanlægget evner at slå sygdomskim ihjel, samt hvordan pasteuriseringsprocessen påvirker råmælkenes immunologi og viskositet. I testforløbet udtages der prøver af råmælken:

1. Før pasteurisering ved en temperatur på 38 °C – en såkaldt 0-prøve som angiver udgangspunktet for indhold af bakterier, immunoglobulin indhold og viskositet.
2. Under pasteurisering efter hhv. 15, 30, 45, 60 og 120 minutter.

Der udtages 6 prøver ved hver udtagning, 2 til totalkim bestemmelse, 2 til coliform bestemmelse og 2 prøver til immunologisk bestemmelse. Derudover er der udtaget en prøve af hver råmælkskassette, som indgår i testen til bestemmelse af råmælkenes viskositet under opvarmning, pasteurisering, og nedkøling. Der foretages dobbeltbestemmelse på alle analyser. Dette tiltag forventes at reducere eventuelle fejl ved analyserne og gøre resultaterne mere præcise.

Oprindeligt var det påtænkt at råmælkenes bakteriologi skulle testes med henblik på indhold af paratuberkulose, Salmonella dublin, coliforme bakterier og totalkim. Vanskeligheder ved analyse af paratuberkulose og Salmonella dublin har medført at disse to analyser er fravalgt, da konklusion på baggrund af resultater fremkommet ved disse analyser, forventes at være forbundet med en stor risiko for fejlvurdering. Argumentationen uddybes i de følgende afsnit.

### Paratuberkulose

I projektet har det oprindeligt været planlagt at undersøge om pasteurisering ved 60°C er i stand til at fjerne alle paratuberkulose bakterier fra råmælken, således at det sikres at paratuberkulose ikke overføres til kalven via råmælken. Det vil dermed kunne medvirke i saneringsprocessen for bekæmpelse af paratuberkulose, i besætninger som er inficeret.

Men det har i mellemtiden vist sig, at analysemetoden til kvantitativ bestemmelse af paratuberkulose bakterier i råmælk, vanskeliggør frembringelse af et brugbart resultat. Metoden bruges rutinemæssigt til bestemmelse af paratuberkulose i gødningsprøver, hvor tilstedeværelsen af paratuberkulose bakterier i forhold til råmælk, vil være mange gange større. Trods en højere koncentration i gødning, er sensitiviteten af denne metode ca. 30 %. Det betyder at 70 % af prøverne som er negative, dvs. ikke indeholder paratuberkulose bakterier, kan vise sig at være positive. Benyttelse af denne metode til test af paratuberkulose indhold i råmælk ved pasteurisering, vil give et meget usikkert grundlag for at vurdere effekten af pasteurisering på indholdet af paratuberkulose bakterier. I værste fald kan brug af metoden betyde, at den bakteriologiske test viser, at det kan lade sig gøre at eliminere paratuberkulose bakterier, men at der i virkeligheden er tale om at metoden har givet falsk negative resultater. Det er der i realiteten ikke en chance for at finde ud af.

På baggrund af denne problematik er der i dette projekt derfor valgt at se bort fra at teste pasteuriseringsanlæggets evne til at fjerne paratuberkulose bakterier i råmælken. Testen vil være omkostningsfuld, og desuden ikke give et sikkert grundlag for at vurdere om pasteuriseringen af råmælken er succesfuld.

### Salmonella dublin

Salmonella dublin er en bakterie som er i familie med E.coli og spredes ligesom denne via gødning. Der udskilles sandsynligvis meget få eller ingen Salmonella dublin bakterier direkte i råmælken (Nielsen 2009). De bakterier som findes i råmælken stammer fra gødningsrester. Der er lanceret en kampagne, som skal få danske kvægbrugere til at sanere mod Salmonella dublin. Målet lyder at Dansk kvægbrug skal være Salmonella dublin fri i 2014. Bremsning af overførslen af smitte fra ko til kalv, gennem forurening af råmælken med gødningsrester, er derfor altafgørende.

Test af indholdet af Salmonella dublin bakterier i råmælken vanskeliggøres ligeledes af analysemetoden. Analysemetoden kan genfinde Salmonella bakterier, men ikke specifikt Salmonella dublin. Det vil kræve en ekstraordinær indsats i form af et forprojekt inden den egentlige undersøgelse kan foretages. Desuden går analysen af Salmonella på tilstedeværelse af bakterier eller ej. Det betyder at der ikke standardiseret udføres kvantitativ bestemmelse af Salmonella bakterier. Der er således ikke mulighed for at klarlægge om der sker en reduktion i antallet af salmonella bakterier eller ej. Det eneste der er mulighed for at analysere er om pasteurisering er i stand til at eliminere Salmonella bakterier eller ej. Og da pasteurisering af råmælken ikke kan forventes at fjerne alle Salmonella bakterier men blot nedbringe den kvantitative mængde betydeligt, er denne metode ikke brugbar i denne sammenhæng. På baggrund af denne problematik er der i dette projekt

derfor valgt at se bort fra at teste pasteuriseringsanlæggets evne til at fjerne Salmonella dublin bakterier i råmælken.

### **Totalkim og coliforme bakterier**

Den bakteriologiske analyse tager i stedet udgangspunkt i analyse af råmælkenes indhold af totalkim og coliforme bakterier. Det er interessant at se på disse to analyseformer, idet der eksisterer retningslinjer for råmælkenes indhold af disse to grupperinger af bakterier. Det anbefales at råmælkenes indhold af totalkim (Total Plate Count - TPC) ikke overstiger 100.000 cfu/ml (colony forming units) og at råmælkenes indhold af coliforme enheder ikke overstiger 10.000 cfu/ml (McGuirk & Collins 2004).

Totalkim angiver de kolonier som vokser til synlig størrelse efter tre dages inkubation ved 30° C på en agar plade. Der er vel at mærke tale om aerobe (vokser ved tilstedeværelse af ilt) bakterier. Herefter tælles antallet af bakterie kolonidannende enheder og resultaterne opgøres derfor som kolonidannende enheder/ml. I dette tilfælde er antallet af kolonidannende enheder angivet pr. gram, på analysesedlerne, men det er ensbetydende med antal koloni dannende enheder pr. ml (Nielsen, 2009). Coliforme bakterier inkuberes på petrifilm i op til 1 døgn, og resultatet opgøres derefter som kolonidannende enheder. Gruppen af coliforme bakterier er vigtig, fordi den blandt andet omfatter bakterier som E. coli, der kan forårsage diarré hos spædkalve.

### **Immunologi**

Råmælkenes indhold af total immunoglobulin (Ig) afprøves i dette forsøg ved Elisa-metoden. Metoden kan kvantificere mængden af Ig ved en antigen-antistof binding. Der skal dog ved test af Ig i pasteuriseret råmælk tages højde for en vis usikkerhed i resultatet. Under pasteurisering vil en lille del af råmælkenes immunoglobuliner blive denatureret, men de forsvinder ikke fra råmælken. De er dog ikke længere aktive og kan derfor ikke bidrage til immunisering af kalven. I forbindelse med analysen af Ig indholdet, kan der ikke skelnes mellem ikke aktive (denaturerede) og aktive immunoglobuliner. Derfor kan det ske at et ikke aktivt antistof binder sig til antigenet og derved medvirker til kvantificering af den totale mængde immunoglobulin. Men reelt set har det ikke aktive antistof ingen virkning. Der er derfor en vis usikkerhed ved metoden, dvs. ved alle antigen/antistof bindingsmetoder. En mere sikker bestemmelse af råmælkenes Ig indhold før og efter pasteurisering vil kræve bestemmelse af serum Ig-indhold ved kalve, som har fået hhv. pasteuriseret og ikke pasteuriseret råmælk. På den måde kan råmælkenes Ig aktivitet kvantificeres indirekte.

I dette indledende pilotforsøg indledes det med laboratoriemetodens bestemmelse af råmælkenes Ig-indhold hhv. før og efter pasteurisering, og i konklusionen på resultaterne tages der forbehold for ovennævnte problematik.

### **Viskositet**

På baggrund af problematikken med forøgelse af råmælkenes viskositet under pasteurisering, undersøges det i dette pilotforsøg, hvordan råmælkenes viskositet ændres, når råmælken opvarmes fra 38 ° C til 60 ° C og holdes ved 60 ° C konstant i op til 120 min og derefter nedkøles til 38 ° C efterfølgende. Viskositeten måles i mPa/s ved en omrøringsrate på 10 omrøringer pr. sekund. Værdien af viskositeten anslås at være afhængig af shear rate, og resultaterne kan derfor kun sammenlignes med resultater fremkommet ved samme shear rate. Det har ikke været muligt at finde tilsvarende resultater fra videnskabelig litteratur.

## Resultater

### Coliforme kim

Som forrige afsnit afklarer årsagen til, er der i denne undersøgelse taget udgangspunkt i pasteuriseringens indvirkning på eliminering af råmælksens indhold af coliforme kim og total kim. Der er i alt udtaget prøver fra 8 råmælkskassetter.

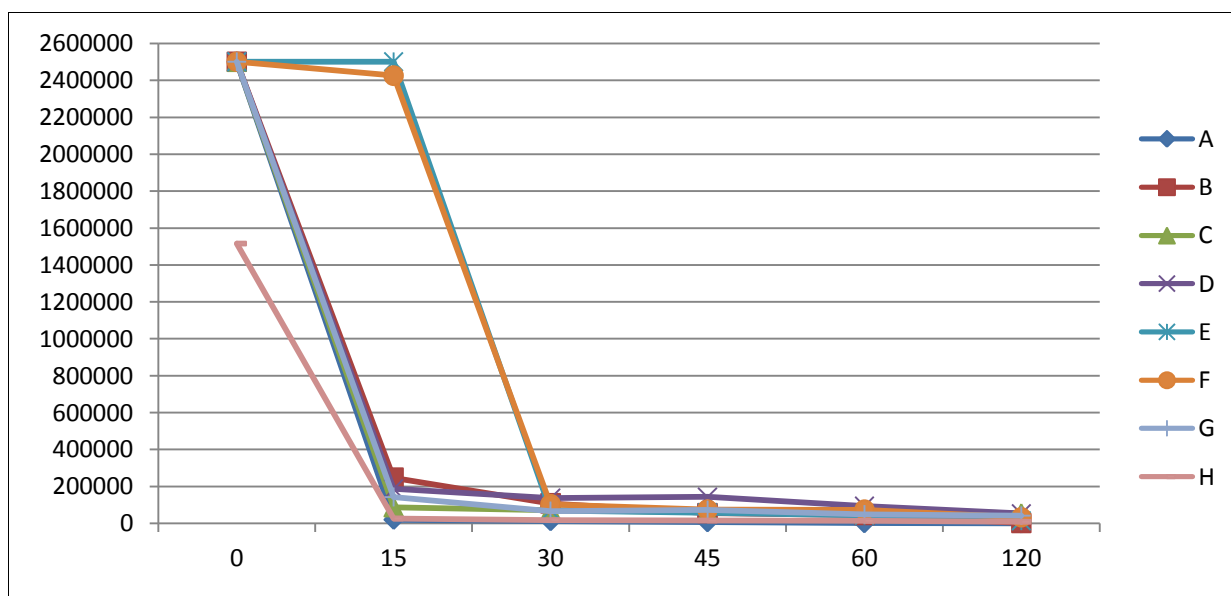
I tabel 1 ses indholdet af coliforme kim fra 4 af de 8 råmælkskassetter, hvor der fandtes et indhold af coliforme kim på over 10 kolonier per. ml ved 0-prøven. Som det ses er der efter pasteurisering i 15 min sket en kraftig reduktion i antallet af koliforme kim. Antallet er lavere end 10 kolonier pr. mg. Set i forhold til en anbefalet max-grænse på 10.000 coliforme kim pr. ml er det med udgangspunkt i værdier på op til 75.000 coliforme kim, muligt at opnå en kraftig reduktion ned under den anbefalede grænse ved pasteurisering i blot 15 min.

Tabel 1. Indhold af coliforme kim ved hhv. 0-prøve og pasteurisering i 15 min.

Prøvenummer	Indhold 0-prøve	Indhold - 15 min pasteurisering
	Antal kim pr. ml	Antal kim pr. ml
C	4.500	< 10
D	5.550	< 10
F	75.005	< 10
H	37.507	< 10

### Totalkim

Råmælksens indhold af totalkim anbefales at være under 100.000 kim/ml ved udfodring. Det viser sig i mellemtiden at det langt fra er alt den råmælk som udfodres der ligger under denne grænse. En Amerikansk undersøgelse anslår at omkring 82 % af alt den råmælk som udfodres indeholder flere end 100.000 kim/ml. Resultaterne fra nærværende undersøgelse understøtter disse estimater. 0-prøverne som repræsenterer råmælksens totalkim indhold umiddelbart efter udmalkning er for alle 8 råmælkskassetter over 1.000.000 kim/ml – 7 af de 8 råmælkskassetter har sågar et totalkim indhold over 2.500.000 kim/ml. Udgangspunktet for pasteuriseringsbehandlingen er således højt. Det kan skyldes at råmælken ikke umiddelbart efter udmalkning er blevet bearbejdet. Det har sandsynligvis givet anledning til en høj bakterievækst. Dobbeltbestemmelse, både ved udtagning af prøverne og ved analyse på laboratoriet, giver anledning til at beregne et gennemsnit af 4 resultater, og dermed et mere præcist estimat af råmælksens totalkim indhold. Figur 8 viser de 8 råmælkskassetters totalkim indhold afhængig af pasteuriseringsvarighed.



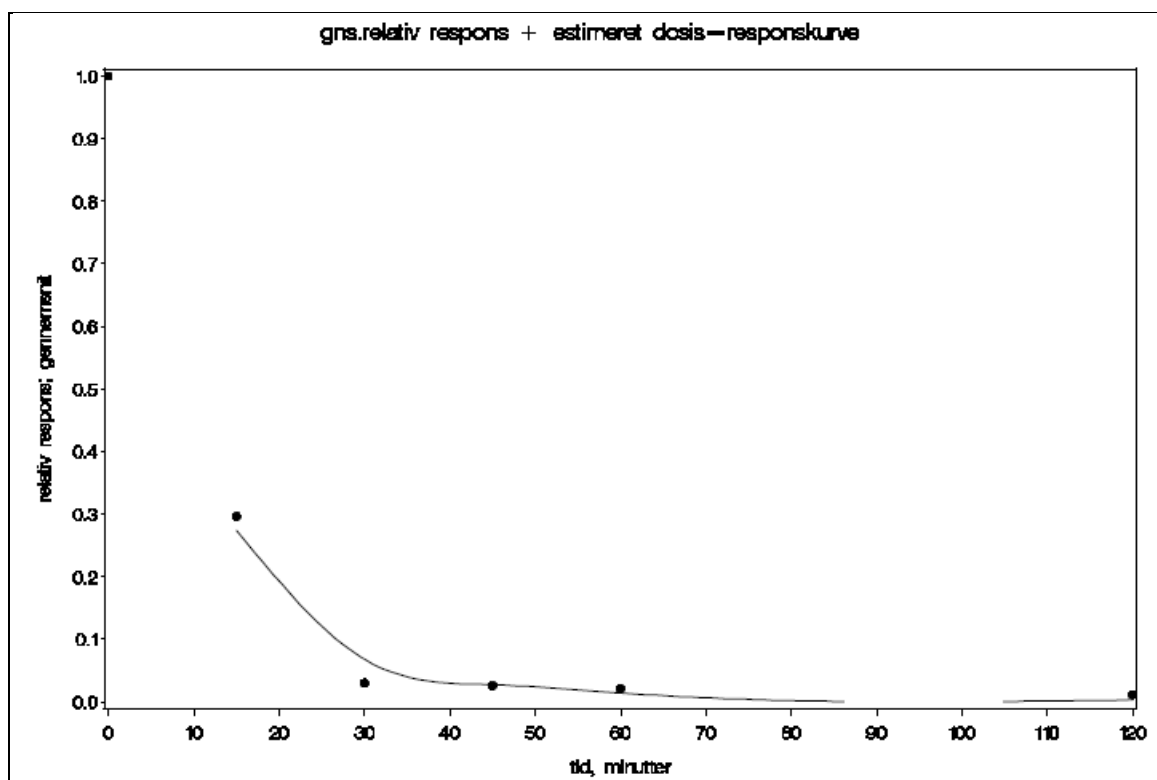
Figur 8. Oversigt over udviklingen i 8 råmælkskassetters totalkim indhold afhængig af pasteuriseringsvarighed.

Tabel 2. Oversigt over totalkim indhold fordelt på råmælkskassette og pasteuriseringsvarighed.

	0-prøve	15 min	30 min	45 min	60 min	120 min
<b>A</b>	2.500.000	19.975	12.675	6.550	1.500	325
<b>B</b>	2.500.000	247.500	109.000	55.750	45.500	2.700
<b>C</b>	2.500.000	88.500	72.250	62.500	75.500	54.750
<b>D</b>	2.500.000	187.500	137.500	143.750	93.750	53.500
<b>E</b>	2.500.000	2.500.000	69.750	57.250	43.250	14.150
<b>F</b>	2.500.000	2.425.000	103.500	74.500	73.750	33.500
<b>G</b>	2.500.000	142.500	66.250	72.250	47.850	41.500
<b>H</b>	1.515.500	26.000	17.250	15.000	14.000	8.600

Som det ses af tabel 2, er der i 6 af de 8 råmælkskassetter allerede efter 15 minutters pasteurisering sket en kraftig reduktion i antallet af bakterier. 3 af de 8 kassetter har et totalkim indhold under 100.000 kim/ml. Efter 30 minutters pasteurisering har 5 ud af de 8 kassetter et totalkim indhold under 100.000 kim/ml. Først efter 60 minutters pasteurisering er der i alle råmælkskassetter et totalkim indhold på under den anbefalede grænse på 100.000 kim/ml. Som det ses findes der efter pasteurisering i 120 min stadig et moderat totalkim indhold i råmælken. Det betyder at disse bakterier stadig kan formere sig under gunstige vækstbetingelser, dvs. høje temperaturer som f.eks. når råmælken skal opvarmes igen efter nedfrysning. Pasteurisering af råmælken er altså ikke ensbetydende med fjernelse af alle bakterier. Hurtig nedkøling af råmælken efter pasteurisering, og kort opvarmning af råmælken inden udfodring er derfor altafgørende (Godden *et al.*, u.å.)

Statisk analyse af resultaterne fra undersøgelsen viser at resultatet af pasteurisering af råmælken er afhængig af pasteuriseringsvarigheden, udgangspunktet for råmælken totalkim indhold, samt kombinationen af udgangspunktet for råmælken totalkim indhold og pasteuriseringsvarigheden. Derudover har der vist sig at være en effekt af laboratorieanalyserne, hvilket betyder at der er en vis variation i resultaterne fra den samme prøve. Dette understreger vigtigheden i at der foretages dobbeltbestemmelse på laboratoriet. Den statistiske analyse giver desuden mulighed for at estimere det procentvise fald i totalkim indhold, afhængig af tid. Det betyder at hvis man kender udgangspunktet for råmælken totalkim indhold, er det muligt at estimere ud fra figur 9, hvor lang tid råmælken skal pasteuriseres for at reducere det relative indhold med x antal % i råmælken.



Figur 9. Procentvis fald i totalkim indhold over tid.

Er udgangspunktet eksempelvis 1.000.000 kim/ml, vil det efter pasteurisering i 20 minutter være reduceret til 20 % af udgangsniveauet, dvs.  $1.000.000 \cdot 0,2 = 200.000$  kim/ml. I praksis er det dog endnu ikke muligt at foretage en hurtigbestemmelse af råmælken totalkim indhold, og udgangspunktet kendes derved ikke.

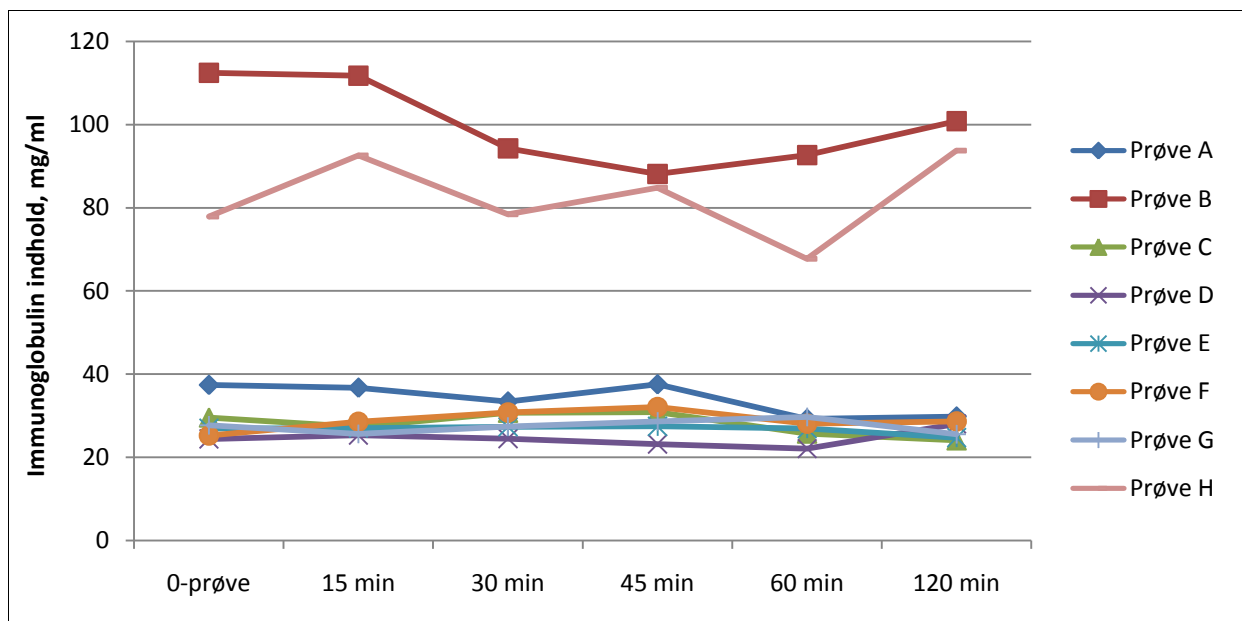
På baggrund af resultaterne af denne undersøgelse konkluderes det derfor, at for at være så godt som sikker på at råmælken totalt indhold er under grænsen på 100.000 km/ml skal råmælken pasteuriseres i 60 min. Kortere pasteuriseringsstid kan bruges, men sikkerheden for at råmælken totalt indhold er under det anbefalede bliver derved også mindre. I den sammenhæng er det ligeledes vigtigt at understrege at hurtig nedkøling og opvarmning af råmælken før udfodring er vigtig, for at begrænse de tilbageværende bakterier i at vokse eksplosivt (Jvf. resultater fra tidligere undersøgelser).

### Immunoglobuliner

Pasteurisering af råmælken kan have indvirkning på råmælken immunoglobuliner, idet høje temperaturer kan få disse proteiner til at denaturere og derved miste deres evne til at immunisere kalven. Undersøgelse skal således belyse om der sker en reduktion af råmælken immunoglobuliner og i så fald hvor stor denne reduktion er. Dette skal lede frem til hvor lang tid det er forsvarligt at pasteurisere råmælken, uden at miste råmælken essentielle egenskaber – immunstoffer.

Råmælken som blev brugt i denne undersøgelse ligger i 6 ud af 8 tilfælde under det anbefalede niveau på 50 mg/ml. Det forhindrer imidlertid ikke en statistisk analyse af resultaterne, hvilket skal give svar på om der sker en reduktion i immunoglobulinerne, og i så fald i hvor høj grad, under hensyntagen til udgangsniveauet.

I figur 10 ses udviklingen i råmælken immunoglobulin indhold i forhold til pasteuriseringsvarighed.



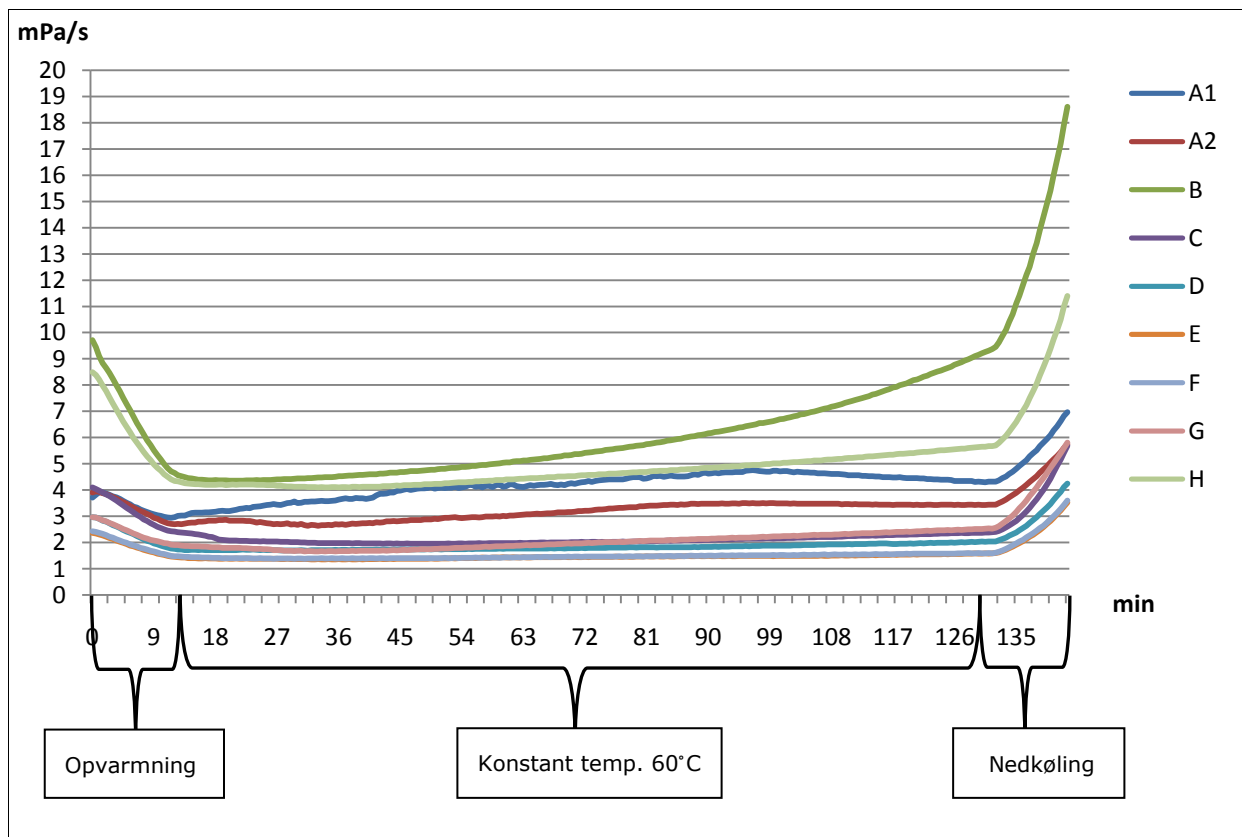
Figur 10. De forskellige råmælkskassetters indhold af immunoglobuliner, i forhold til pasteuriseringsvarighed.

Den statistiske analyse af resultaterne af immunoglobulin målingerne viser, at der ikke kan påvises en signifikant reduktion i antallet af immunoglobuliner. Dog skal det nævnes at der er en tendens til at der er effekt af pasteuriseringsvarighed, således at råmælken immunoglobulin indhold falder svagt med stigende pasteuriseringsvarighed. I forbindelse med bestemmelse af råmælken immunoglobulin indhold ved pasteurisering, skal der desuden tages hensyn til førnævnte problemstilling, om en vis usikkerhed ved resultaterne. Det skyldes at denatureret antistof stadig kan interferere i antigen-antistof bindingen og dermed medgå i målingen af aktivt antistof. Resultaterne fra denne undersøgelse, skal derfor betragtes med en vis portion skepsis. Undersøgelsens resultater kan evt. verificeres ved en ny undersøgelse, hvor immunoglobulin indhold i råmælk sammenholdes med kalvenes serum immunoglobulin indhold.

### Viskositet

Varmebehandling af råmælk ved høje temperaturer får råmælken proteiner til at denaturere, hvilket medfører at råmælken får en tykkere konsistens. Der er i denne undersøgelse derfor afprøvet hvad der sker med råmælken fluiditet eller viskositet ved opvarmning fra 38 °C til 60 °C, pasteurisering ved 60 °C i 120 min og derefter nedkøling til 38 °C efterfølgende. Udviklingen i råmælken viskositet for de 8 råmælkskassetter kan ses af figur 11. For råmælkskassette A blev der foretaget to separate analyser, grundet forskelligt udfald af dobbeltbestemmelsen. Til sammenligning har almindelig mælk

en viskositet på 3 mPa/s ved 25 ° C, men f.eks. blod har en viskositet på 3-4 mPa/s ved 37 ° C og olivenolie ved 20 ° C har en viskositet på 84 mPa/s.



Figur 11. Udvikling i råmælkens viskositet afhængig af tid og temperatur.

Som det ses af figuren falder råmælkens viskositet under opvarmning. Når råmælken har opnået en temperatur på 60 ° C sker der over tid en lille stigning i viskositeten under opretholdelse af en konstant temperatur på 60 ° C. Stigningen er mest markant i de råmælksprøver som har det højeste indhold af immunoglobuliner (A1, B og H). Under nedkøling sker der igen en markant stigning i råmælkens viskositet og igen er det råmælksprøverne med højst immunoglobulin indhold som stiger kraftigst. Stigningen overstiger udgangspunktet for de forskellige råmælkskassetters viskositet. Selvom råmælkens viskositet stiger efter pasteurisering, er stigningen minimal, og er ifølge laboranten som har udført opgaven, ikke synlig med det blotte øje. På baggrund af disse resultater kan det konkluderes at pasteurisering af råmælk ved 60 ° C ikke har betydelig indflydelse på råmælkens viskositet. Råmælken kan stadig udfodres på normal vis, og renholdelse af redskaber som er i kontakt med den pasteuriserede råmælk er derved ikke vanskeliggjort.

### Konklusion

På baggrund af analyser af råmælkens udvikling i: indhold af coliforme og totalkim, immunoglobulin indhold og viskositet, under forskellig pasteuriseringsvarighed er det muligt at konkludere følgende:

- Pasteurisering i 15 min reducerer antallet af coliforme kim til under 10 kim/ml fra de udgangsniveauer der blev undersøgt.
- Pasteurisering i 60 min vil med stor sandsynlighed nedbringe antallet af totalkim til under 100.000 kim/ml.
- Ved pasteurisering af råmælk i op til 120 min kan der ikke påvises en reduktion i råmælkens indhold af immunoglobuliner – der var dog tendens til en lille reduktion. Test af kalves serum immunoglobulin indhold vil kunne verificere dette resultat, idet laboratorieanalysen til bestemmelse af immunoglobulin indholdet er forbundet med en vis usikkerhed.
- Pasteurisering i op til 120 min medfører en stigning i råmælkens viskositet. Stigningen er størst ved råmælk med et højt immunoglobulin indhold. Stigningen i viskositeten anses dog ikke for værende et problem i forhold til udfodring af råmælken og renholdelse af redskaber som er i kontakt med råmælken – idet ændringen i viskositeten ikke er synlig med det blotte øje.

Det skal fastslås at pasteurisering ikke betyder at hygiejnisk håndtering af råmælken inden og efter pasteurisering er overflødig. Råmælkens indhold af de tilbageværende kim kan stadig formere sig

under gunstige vækstbetingelser, som eksempelvis opvarmning efter pasteurisering og nedfrysning af råmælken.

### **Anbefalinger til programudvikling**

På baggrund af resultaterne af undersøgelsen er det muligt at give anbefalinger til programudvikling på pasteuriseringsanlægget. Programmets varighed afhænger af hvornår landmanden vælger at pasteurisere råmælken, fra frosset tilstand, kølet eller friskt udmalket. Det afhænger desuden af om anlægget vand holdes på en konstant temperatur eller om det slukkes mellem hver pasteurisering, således at vandet køles ned til den omgivelsernes temperatur. Dette afhænger sandsynligvis af hvor mange køer landmanden har og dermed hvor ofte anlægget er i brug.

- Landmanden pasteuriserer umiddelbart inden udfodring. Denne metode kræver at anlægget har indrettet en funktion som nedkøler råmælken til udfodringstemperatur umiddelbart efter pasteurisering. Denne metode medfører at processen tager længere tid, men sikrer også at råmælkens tilbageværende bakterier har ringest vækstvilkår og dermed kun kan formere sig minimalt. Desuden kan processen sættes i gang umiddelbart efter at koen har kælvet og dermed stadig opnå tildeling af råmælk til kalven indenfor to timer efter fødslen.
- Landmanden pasteuriserer umiddelbart efter udmalkning og lægger derefter råmælken i fryseren. Her bør der indrettes en funktion som sikrer at landmanden kan tage kassetten op af vandet uden at berøre det 60 ° C varme vand med fingrene. Det kan f.eks. ske ved at lukke en del af vandet ud efter pasteuriseringen er tilendebragt. Det skal dog gøres opmærksom på at denne metode giver anledning til bakterievækst fra de tilbageværende bakterier både under nedfrysning og under opvarmning til udfodring af råmælken.

Denne undersøgelse viser, i overensstemmelse med andre videnskabelige undersøgelser, at pasteurisering af råmælk ved 60 ° C har minimal indvirkning på råmælkens immunoglobuliner og viskositet, men er effektiv i reducere af bakterier såsom coliforme kim og total kim. Som før nævnt er der i denne undersøgelse ikke undersøgt pasteuriseringens evne til at reducere antallet af paratuberkulose og Salmonella dublin bakterier, idet metoderne til undersøgelse af dette, er utilstrækkelige. I stedet henvises der til andre videnskabelige undersøgelser (Godden *et al.*, 2006) som anser 60 minutters pasteurisering ved 60 ° C for tilstrækkeligt til at kunne reducere antallet af paratuberkulose bakterier til et minimum. Det anbefales dog på baggrund af de manglende resultater at konkludere ud fra, at kvægbrugeren stadig følger de opstillede retningslinjer med henblik på frasortering af råmælk fra køer som sandsynligvis udskiller disse bakterier igennem gødningen, og dermed risikerer at overføre bakterierne til råmælken.

På baggrund af analyserne på råmælken anbefales det at pasteurisere råmælk i 60 min for at øge sandsynligheden for at antallet af bakterier er på et minimum, specielt hvis råmælken ikke udfodres umiddelbart efter pasteurisering. Det anbefales at bruge råmælk med et immunoglobulin indhold over 50 mg/ml. Erfaringer fra tidligere og nuværende projekt antyder at stort set alt råmælk har et total kim indhold over den anbefalede grænse på 100.000 kim/ml. Det leder frem til en konklusion om at råmælk fra køer, som sandsynligvis ikke udskiller Salmonella dublin og paratuberkulose bakterier med fordel kan pasteuriseres. Det bevirker at der er langt større sikkerhed for at råmælkens total kim og coliforme kim indhold er under den anbefalede øvre grænse. Dette vil ifølge flere videnskabelige kilder ikke blot mindske risikoen for at kalven bliver syg, men også have en positiv effekt på effektiviteten af optagelsen af immunoglobuliner.

## Litteratur

Anonym 2009. *Pasteurisering af mælk*. [online] (citeret d. 11/2 2009) Tilgængelig online på: [http://www.mejeri.dk/smcms/mejeri\\_dk/Maelk\\_og\\_ernaering/Produkter/Drikkemaelk/Pasteurisering\\_af/Index.htm?ID=3526](http://www.mejeri.dk/smcms/mejeri_dk/Maelk_og_ernaering/Produkter/Drikkemaelk/Pasteurisering_af/Index.htm?ID=3526)

Elizondo-Salazar, J. A. & A. J. Heinrichs. 2009. *Feeding heat-treated colostrums to neonatal dairy heifers: Effects on growth characteristics and blood parameters*. J. Dairy Sci. 92: 3265-3273.

Godden, S., S. McMartin, J. Feirtag, J. Stabel, R. Bey, S. Goyal, L. Metzger, J. Fetrow, S. Wells, and H. Chester-Jones. 2006. *Heat treatment of bovine colostrums. II: Effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G*. J. Dairy Sci. 89:3476-3483.

Godden, S., Feirtag, J. & Green, L. u. å. *A review of issues surrounding the feeding of pasteurized non-saleable milk and colostrums*. [online] (citeret d. 13/8 2009) Tilgængelig online på: [http://www.extension.umn.edu/dairy/05dairydays/pasteurized\\_milk-DairyDays05.pdf](http://www.extension.umn.edu/dairy/05dairydays/pasteurized_milk-DairyDays05.pdf)

James, R. E., and C. E. Polan. 1978. *Effect of orally administrated duodenal fluid on serum proteins in neonatal calves*. J. Dairy Sci. 61: 1444-1449.

James, R. E., C. E. Polan, and K. A. Cummings. 1981. *Influence of administrated indigenous microorganisms on uptake of [Iodine125] gamma-globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves*. J. Dairy Sci. 64:52-61.

Johnson, J. L., S. M. Godden, T. Ames, and D. Hagman. 2007. *Effects of feeding heat-treated colostrums on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves*. J. Dairy Sci. 90:5189-5198.

McGuirk, S. M. and M. Collins. 2004. *Managing the production, storage and delivery of colostrums*. Vet. Clin. North Am. Food Animal Pract. 20(3):593-603.

McMartin, S., S. Godden, L. Metzger, J. Feirtag, R. Bey, J. Stabel, S. Goyal, J. Fetrow, S. Wells, and H. Chester-Jones. 2006. *Heat treatment of bovine colostrums. I: Effects of temperature on viscosity and immunoglobulin G level*. J. Dairy Sci. 89:2110-2118.

Meylan, M. M. Rings, W. P. Shulaw, J. J. Kowalski, S. Bech-Nielsen, and G. F. Hoffsis. 1996. *Survival of Mycobacterium paratuberculosis and preservation of immunoglobulin G in bovine colostrums under experimental conditions simulating pasteurization*. Am. J. Vet. Res. 57:1580-1585.

Nielsen, L. R. 2009. Personlig meddelelse. Lektor, Ph. D. Københavns Universitet – Life – Institut for Produktionsdyr og Heste, Grønnegårdsvej 8, 1870 Frederiksberg C.

Nielsen, S. 2009. Personlig meddelelse. Analytical Sales Manager – Eurofins Steins Laboratorium, Hjaltevej 8, 7500 Holstebro.

Skjøth, F. & I. Fisker. 2009. *Kalvedødelighed i Danmark*. Tal om kvæg. [online] (citeret d. 26/5 2009) Tilgængelig online på: <http://www.lr.dk/kvaeg/informationsserier/nogletal/fls003tabel11.html>

Staley, T. E. and L. J. Bush. 1985. *Receptor mechanisms of the neonatal intestine and their relationship to Ig absorption and disease*. J. Dairy Sci. 68:184-205.

Wells, S. J., D. A. Dargatz, & S. L. Ott. 1996. *Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States*. Prev. Vet. Med. 29:9-19.