

Ekologisk mjölkproduktion med 100 % ekologiskt foder på Tingvalls försöksgård. Slutredovisning till Jordbruksverket av projekt med diarienummer 25 – 1367/03 “Vitaminförsörjning till mjölkkor i ekologisk produktion”

Birgitta Johansson och Elisabet Nadeau, Sveriges Lantbruksuniversitet, Inst. för Husdjurens miljö och hälsa, Skara. Søren Krogh Jensen, Århus universitet, Forskningscenter Foulum, Avd. för Husdyrsundhed, Velfærd og Ernæring, Tjele och Karin Persson Waller, Avdelningen för lantbrukets djur SVA, Uppsala.

Projektet beviljades 2003 till 2006 bidrag från Jordbruksverkets medel för “försök och utveckling av ekologisk produktion” för att driva försök med försörjning av vitamin A och E till mjölkkor. Kornas status av vitamin D kommer att presenteras vid senare tillfälle, vitamin D finansieras från Danmark av SOAR, DJF och KVL. Projektet startades den 1 november 2003 och pågick under hela laktationen. Ett andra försöksår pågick under perioden 2004/2005. Försöket drevs av husdjurens miljö och hälsa, SLU Skara, i samarbete med Forskningscenter Foulum, SVA samt Hushållningssällskapet Väst. Hushållningssällskapet stod för den ekologiska kobesättningen och byggnader.

Bakgrund

År 2000 beslutade EU, enligt rådets förordning nr. 1804/1999 att idisslare inom ekologisk produktion skulle utfodras utan tillskott av syntetiska vitaminer och från 2008 ska ekologisk mjölkproduktion baseras på enbart ekologisk foder (förordning nr. 1294/2005). Förbudet mot syntetiska vitaminer baserades på att det syntetiska vitaminet tillverkas på kemisk väg, med icke tillåtna medel inom ekologisk produktion (Carlsson, 2000). Förbudet är nu borttaget, men de ekologiska principerna bygger på att utfodra djuren med så få syntetiska produkter som möjligt. Enligt KRAVs regler får syntetisk vitamin A, D och E ges när djuren har behov av det. Avgörande är att djurens välbefinnande och hälsa är beroende av vitamintillskottet, något som producenten ska kunna visa. Under betesperioden är det normalt inte fallet (www.KRAV.se, 2007). För att djuren med säkerhet skall få i sig tillräckliga mängder av vitaminer rekommenderas lantbrukarna idag att ge syntetiskt vitamintillskott kontinuerligt till sina kor. Beslutet mot syntetiska vitaminer innebar att ekologiska kor skulle klara sitt behov av vitaminer genom det som naturligt finns tillgängligt i fodret eller genom tillskott av ett naturligt framtaget vitamin. EU har även beslutat att produkter som framställts med användning av och/eller med härledning ur genetiskt modifierade organismer inte får användas som foder till djur i ekologisk produktion. Naturliga vitaminer utan sådan härkomst finns endast i begränsad tillgång på marknaden idag.

Det är främst idisslarnas behov av de fettlösliga, essentiella vitaminerna A, D och E som är av störst betydelse. Detta för att vitamin K syntetiseras av bakterier i idisslarnas mag- och tarmkanal. Vitamin C syntetiseras av djuret själv från glukos. Från vitamin B-komplexet kan alla vitaminer syntetiseras av idisslare genom mikroberna i våmmen. Däremot kan A- och E-vitamin inte syntetiseras av djuret utan måste intas via födan. D-vitamin kan tas upp av djuret via solljus. Dock råder en osäkerhet om hur stor del av djurets behov som tas upp via ljuset (Mc Donald et al., 1988).

Vitamin E

Det finns åtta naturligt förekommande former av vitamin E (Mc Donald et al., 2002). De olika formerna är α , β , γ , och δ tokoferoler respektive tokotrienoler. Skillnaden mellan tokoferoler och tokotrienoler är att tokotrienolerna har omättad sidokedja (Mc Dowell, 2000). Tokoferolerna benämns ofta synonymt som E-vitamin och har den fysiologiskt viktigaste rollen. Av tokoferolerna är α -tokoferol den mest biologiskt aktiva. Dess stereokemiska struktur är 5,7, 8-trimetyltokol (Knudsen et al., 2001).

Vid framställning av naturligt E-vitamin är α -tokoferol därmed den formen av vitamin E som är av intresse. Dess stabilitet är låg, OH-gruppen är mycket reaktiv och alkoholen hydrolyseras mycket lätt. Detta är ett problem då man vill få fram en helt naturlig E-vitamin produkt som tillskottsfoder, eftersom lagringskapaciteten blir mycket låg. För att öka stabiliteten förestras vitaminet. Det bildar då en acetatbunden form av vitamin E och benämns α -tokoferyl acetat (Knudsen et al, 2001). Denna form blir stabilare, dock inte lika biologiskt aktiv (De Leenheer et al., 1992). Den här formen kallas ibland seminaturlig eftersom det är en naturlig källa som är behandlad kemiskt för att bilda en mer stabil form.

Vid framställning av syntetiskt E-vitamin används grundsubstanserna trimetylhydroquinon (TMHQ) och isophytol. Då bildas det som även kallas All-rac- α -tokoferol eller syntetiskt E-vitamin. All-rac- α -tokoferol består av åtta olika stereoisomerer. De isomerer som finns är RRR, RRS, RSS, RSR, SRS, SRR, SSR och SSS. Det bildas 12,5 % av varje isomer och det är endast RRR-isomeren som kan jämföras med det naturliga vitaminet (Jensen, 2003c). Det syntetiska vitaminet får därför en betydligt mindre biologisk aktivitet än det naturliga vitaminet (Brigelius-Flohé & Traber, 1999; NRC, 2001; Jensen, 2003b).

Ett milligram av den syntetiska formen all-rac- α -tokoferyl acetat är lika med en IE av E-vitamin. Ett milligram av RRR- α -tokoferol är lika med 1,49 IE av vitamin E. Detta gäller alla djurslag (NRC, 2001).

Funktion

E-vitamin är en mycket viktig komponent i cellmembranen, då vitaminet förebygger oxidering av membranlipider och skyddar dem och omkringliggande vävnad mot skador. Detta har betydelse för djurets immunförsvar och mjölkens kvalitet och hållbarhet. (Knudsen et al., 2001)

Vitamin E fungerar i huvudsak som *antioxidant*. Antioxidanterna skyddar djurets celler från att skadas genom närvaro av fria radikaler. Dessa är mycket reaktiva molekyler som innehåller en eller flera fria elektroner. Exempel på fria radikaler kan vara $O_2^{\cdot -}$ -grupper och OH^{\cdot} -grupper. De är reaktiva för att de försöker få, eller bli av med en elektron så att de når stabilitet (Mc Donald et al., 1988). Alla omättade fettsyror och speciellt de som innehåller fler än två dubbelbindningar är mycket mottagliga av angrepp från fria radikaler. Därför är alla cellmembran känsliga för angrepp av fria radikaler då de innehåller fleromättade fettsyror, fosfolipider och många enzymsystem. De fleromättade fettsyrorerna kan bli extremt skadade om de angrips då det skapas en självupprätthållande kedjereaktion (Mc Donald et al., 1988; Knudsen et al, 2001).

Vitamin E är lokaliserat i mitokondrien och i det endoplasmatiska nätverket i cellerna. Det skyddar fettsyror från att oxidera genom att de donerar en väteatom till de fria radikalerna. Dessa bildar då stabila molekyler istället för att angripa fettsyror så att kedjereaktioner bildas. Vitamin E är det första att försvara oxidation av de viktiga fosfolipiderna. I membranen finns även enzymet glutathione peroxidase (GSH-Px). Det innehåller selen, andra vitaminer och spårelement som i samarbete med vitamin E också skyddar cellerna mot oxidationsskador och patogener (Hogan et al, 1993; McDowell, 1992).

Under sjukdom kan bildandet av fria radikaler öka kraftigt i leukocyter (vita blodkroppar), som till exempel i neutrofila grannulocyter. Om radikalerna inte stabiliseras blir dom giftiga för de neutrofila grannulocyterna som utför fagocytos (cellätning) och förstör bakterier. E-vitamin bidrar därför till att bekämpa bakterier och är *en del av immunförsvaret*. I litteraturen är det väl känt att immunsystemet stärks genom att fagocyternas funktion förbättras då tillskott av E-vitamin ges. Saknad av vitamin E i cellerna ger en negativ effekt på de neutrofila grannulocyterna då de ska angripa ett infektionsställe. Flera försök visar att E-vitamin hämmar oxidation av fleromättade fettsyror i leukocyternas membran och förbättrar därmed dess funktion (Knudsen et al., 2001).

Hur effektiva leukocyternas angrepp mot infektionsstället är, beror på produktionen av bakterier och leukocyternas respons mot dessa. Responsen är oftast nedsatt vid tiden runt kalvning. Försök har visat att de neutrofila grannulocyternas respons mot patogener kan öka vid tillskott av E-vitamin. Det har visats av t.ex. Hogan et al. (1993) att det finns ett positivt samband mellan plasmakoncentrationen av vitamin E och de neutrofila grannulocyternas intracellulära angrepp på bakterier. Om plasmakoncentrationen av E-vitamin ökas från 1 till 3 μg α -tokoferol/ml ökar de neutrofila grannulocyternas bakterieangrepp med 25 % (Hogan et al. 1993). Plasmakoncentrationen bör därför ligga på minst 3 μg α -tokoferol/ml för att de neutrofila grannulocyterna ska ha en optimal funktion (Knudsen et al, 2001).

Absorption och behov av vitamin E

Vitamin E kan lagras i alla organ, i huvudsak i levern. Det förbrukas helt inom 2-4 veckor och måste därför fyllas på hela tiden för att inte förråden ska tömmas (Weiss, 1999; McDowell, 2000; Jensen, 2003c). Fodrets innehåll av lipider består till stor del av triglycerider och fosfolipider samt de fettlösliga vitaminerna. Vitaminerna följer lipiderna i fodret och absorberas samman med dessa (Knudsen et al., 2001).

Vitamin E absorberas från tunntarmen till lymfkapillärer i så kallade chylomikroner. I lymfan cirkulerar E-vitamin bundet till ospecifika lipidproteiner (Knudsen et al., 2001). Från lymfan transporteras vitaminet via chylomikronerna till levern där resterna kvarlämnas. Efter passagen genom levern förekommer α -tokoferol i plasma. Andra former av vitamin E, som β , γ , och δ tokoferoler förstörs av gallsalter och tas inte upp utan utsöndras i feces. Detta beror på ett specifikt protein, α -tokoferol-transfer protein (α -TTP). Proteinet binder bara till α -formen, den föredrar också RRR-isomeren före de andra isomererna (Brigelius-Flohé & Traber, 1999). Esterbundet vitamin E måste spjälkas av carboxylesterase från bukspottskörteln innan det kan tas upp av tunntarmen, såvida det inte spjälkats i våmmen (Hidiroglou et al., 1992).

Absorbtionen av E-vitaminet från fodret är relativt lågt, cirka 10-45 % av den mängd som finns i fodret (Johnsson & Pover, 1962; Bondi, 1987; Pond et al., 1995). Det finns en interaktion mellan E-vitamin och andelen fleromättade fettsyror i fodret, speciellt linolensyra. De fleromättade fettsyrorerna minskar absorptionen av E-vitamin antagligen genom inaktivering i våmmen eller med ökad oxidation av vitamin E i tarmen. Behovet av vitamin E ökar därmed vid utfodring av fodermedel vilka innehåller en hög andel fleromättade fettsyror (Mc Donald et al., 1988; Knudsen et al., 2001).

Behovet av tillskottsutfodring med E-vitamin beror på hur mycket vitaminer fodret innehåller. Det beror framförallt på mängden, typen och kvalitén på grovfodret. Behovet skiljer sig även beroende på var i laktationen kon befinner sig. Eftersom E-vitamin är viktigt för ett väl fungerande immunförsvar och därmed medverkar till att kon lättare kan klara av en kalvning är behovet större runt kalvningsperioden. Vid tiden runt kalvning är även foderintaget relativt lågt och därmed ökar behovet av vitamintillskott. Kons E-vitaminstatus kan mätas i plasman (Knudsen et al., 2001). Minskningen av vitamin E runt kalvning beror även på råmjölsbildningen (Goff & Stabel, 1990) och på minskad absorption (Betrics et al., 1992; Weiss et al., 1994; Grummer, 1995). När kalvningen närmar sig minskar leverns utsöndring av lipoproteiner vilket sänker dess transportkapacitet för vitamin E (Herd & Stowe, 1991). Sinkor har även på grund av foderintaget generellt lägre koncentration av cirkulerande plasmalipider än lakterande kor (Herd & Stowe, 1991; Weiss et al., 1994). Den låga koncentrationen av plasmalipider kan medföra en minskad absorption av E-vitamin i tarmen (Knudsen et al., 2001).

NRC rekommenderar ett tillskott av syntetiskt E-vitamin på 1202 IE/dag till sinkor och högdräktiga kvigor och 545 IE/dag till lakterande kor (NRC, 2001; Tabell 1). Dessa är höga i jämförelse med de danska normerna. Detta beror främst på att man i USA, där normerna sätts, till största delen utfodrar sina kor med majsensilage vilket har ett lågt innehåll av naturligt E-vitamin. De danska normerna ligger på 400-800 IE/dag till högdräktiga kvigor och lakterande kor medan sinkor bör få tillskott på 800 IE/dag (Strudsholm et al., 1999; Jensen, 2003b; Tabell 1). De svenska normerna är anpassade efter NRC: s normer för 2001. Betande djur har 2/3 lägre behov av tillsatt vitamin E på grund av högt innehåll i betet (Spörndly, 2003).

Tabell 1. Jämförelse mellan NRC, Svenska och Danska normer för tillskott av syntetiskt vitamin E till mjölkkor med hög avkastning och sinkor samt högdräktiga kvigor (Strudsholm et al., 1999; NRC, 2001; Spörndly, 2003)

Landsnorm	Svenska	NRC	Danska
Mjölkkor	Hög	Hög	Hög
Vit A IE/dag		75000	32000-56000
Vit A IE/kg ts	3000		
Vit E IE/dag		545	400-800
Vit E IE/kg ts	20 el. 30 ¹	27	
Sinkor			
Vit A IE/dag		100000	80000-140000
Vit A IE/kg ts	5500		
Vit E IE/dag		1200	400-800
Vit E IE/kg ts	80	88	
Kvigor			
Vit A IE/dag		75000	30000-50000
Vit A IE/kg ts	5500		
Vit E IE/dag		1200	250-800
Vit E IE/kg ts	80	88	

1) Vid utfodring av syrabehandlad spannmål eller vid hög fettgiva. (Pehrson, 1989)

Enligt ett danskt försök bör sinkor få ett tillskott på minst 600 IE/dag och lakterande kor tillskott på 1600-1800 IE/dag för att plasmakoncentrationen av vitamin E skall hålla sig runt 3 µg/ml, vilket är den rekommenderade nivån för att kon skall ha ett fungerande immunförsvar (Knudsen et al., 2001). Andra undersökningar visar att tillskott med 3000 respektive 1000 IE E-vitamin/ko och dag reducerar oxiderad smak på mjölken och ger därmed förbättrad mjölk kvalitet (St. Laurent et al., 1990; Knudsen et al., 2001).

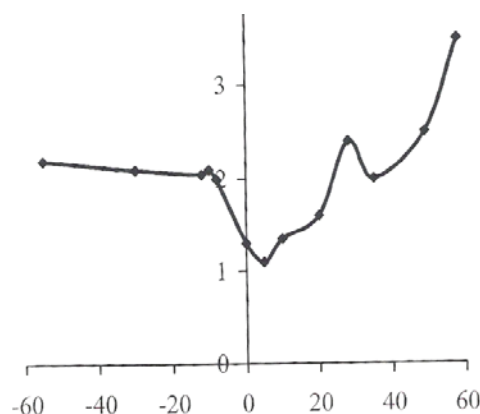
Tillskott på 1000 IE/dag av vitamin E till sinlagda kor har visat sig minska antalet mastiter runt kalvning med 30 %. Samma studie visade att ett tillskott på 4000 IE/dag av vitaminet under de två sista veckorna av den sinlagda tiden resulterade i en minskning med 80 % av kliniska mastiter (Batra et al. 1992). Andra försök gjorda av Politis et al. (1995) och Weiss et al. (1997) har visat att ett dagligt tillskott av 3000 IE/dag av E -vitamin de två sista veckorna före kalvning reducerade antalet infektioner i juvret, mastiter och förekomst av kvarbliven efterbörd.

E-vitamininnehåll i plasma

Innehållet av E-vitamin i plasma varierar beroende på mängden E-vitamin som finns i fodret och var i laktationen kon befinner sig. I studier enligt bl.a. Batra et al. (1992), Weiss et al. (1997) och Meglia et al. (2004) sjunker E-vitamin nivåerna i plasman vid kalvning och når sin lägsta nivå omkring en vecka efter kalvning. Nivåerna har vistas sjunka från ca 2 µg/ml under dräktigheten till ca 1,2 µg/ml vid kalvning (Weiss et al., 1997; Figur 1). Andra försök visar att kor som inte får extra tillskott av vitamin E har en betydligt lägre nivå i blodet vid tiden runt kalvning. Nivåerna ligger då ofta under 3 µg/ml som är den optimala nivån för att djuret ska ha en bra immunfunktion. Enligt Knudsen et al. (2001) bör plasmanivåerna vara på denna nivå två till fyra veckor efter kalvning medan Jukola et al. (1996) rekommenderar att E-vitamin i blodet bör ligga

på $>4 \mu\text{g/ml}$ för att juverhälsan skall hålla sig optimal. Enligt Meglia et al. (2004) är det 90 % chans att koncentrationen av Vitamin E hamnar över $3 \mu\text{g/ml}$ runt kalvning om kon i mitten av sintiden har koncentrationer på $\geq 5,4 \mu\text{g/ml}$ av vitamin E.

E-vitaminkoncentration mg/l plasma



Dagar före och efter kalvning

Figur 1. Vid kalvning sjunker E-vitamin nivåerna i plasman (Weiss et al., 1997).

E-vitamininnehåll i mjölk

Fodrets vitamininnehåll återspeglas i blodet samt i mjölkens sammansättning. Kor som är på bete har högre halter i mjölken än kor som får vallensilage. Lägst halter i mjölken finns hos kor som utfodras med majsensilage. Resultat från ett danskt försök, som genomfördes på åtta mjölkfogårdar under 2001, visar att kornas E-vitamin (α -tokoferol) status i blodet ökar kurvlinjärt med ökat intag av vitamin E från fodret (Jensen, 2003b). Mjölkkörteln kan själv inte syntetisera vitamin E så mjölkens innehåll kan direkt relateras till innehåll i blodplasman (Knudsen et al., 2001). Enligt studier gjorda av St-Laurent et al. (1990) och Jensen et al. (1999) når nivåerna i mjölken en plåtå. Vitaminhalterna i mjölken stiger inte över en viss nivå även om plasmanivåer av E-vitamin stiger. Svenska ekologiska kor har en hög mjölkavkastning jämfört med ”eko-kor” i de flesta andra länder. I och med att avkastningen ökar uppstår en ”utspädningseffekt” i mjölken, då utsöndringen av α -tokoferol inte ökar i motsvarande grad utan är oberoende av mjölmängden (Jensen et al., 1999).

Mjölk är inte den huvudsakliga sekretionskällan för α -tokoferol utan endast $0,4$ till $0,6 \mu\text{g/ml}$ förs ut i mjölken. Kalven föds så gott som utan reserver av fettlösliga vitaminer i levern och är därför helt beroende av att få vitamin E via råmjölken. Råmjölken har ett betydligt högre innehåll av på 3 till $6 \mu\text{g}$ α -tokoferol/ml. Innehållet i colostrum återspeglar kons status och därmed är det viktigt att den är god.

Vitamin E är viktigt för mjölkens kvalitet. Fettkulorna i mjölken består av ett dubbelt membranlager som kallas MFGM (Milk Fat Globule Membrane). Membranet består av protein, fosfolipider, triglycerider, enzymer och mikronäringsämnen som bland annat vitamin E. Oxidation av mjölkfetter börjar på ytan av MFGM varpå innehållet och sammansättningen av antioxidanter i dessa är av stor betydelse. Den oxiderade

smak som mjölken kan få beror på fria karbonylgrupper som finns efter oxidation av omättade fettsyror från fettkulornas membran. Detta ger lukt och smakfel på mjölken. Vitamin E har visats vara av stor betydelse för mjölkens resistens mot oxidering. I flera försök har det visats att om man ökar E-vitamin tilldelningen ökar α -tokoferol nivåerna i mjölken, vilket resulterar i att mjölkens resistens mot oxidering förbättras (Knudsen et al., 2001).

Enligt en nyare undersökning (Politis et al., 2003) visade tillskott av vitamin E ge en positiv effekt på mjölkens kvalitet. Korna fick en giva på 3000 IE E-vitamin per ko och dag runt kalvning och 1000 IE efter kalvning, vilket jämfördes med en kontrollgrupp utan tillskott. De kor som fick E-vitamin hade 25 % lägre cellhalt i mjölken och 30 % lägre plasmidaktivitet i jämförelse med de andra korna. Reduktionen av plasmider är till fördel för mjölkindustrin. Plasmiderna minskar möjligheterna att tillverka ostprodukter av mjölken.

Symptom vid brist på vitamin E

Den sjukdom som i första hand förknippas med brist på E-vitamin är muskeldegeneration (NMD) men även reproduktionssjukdomar och mastiter förknippas med brist på vitaminet (Smith, 1986; Batra et al. 1992; Hogan et al. 1993; Jukola et al., 1996; Weiss et al., 1997). Saknad av ämnen som E-vitamin och/eller selen minskar skyddet av fria radikaler och andra patogener i cellerna. Flera undersökningar har visat att djur som får i sig för lite E-vitamin i födan blir mer mottagliga för bakterieinfektioner och riskerar ett försvagat immunförsvar (Hogan et al., 1993; Jukola et al., 1996; McDowell, 2000; Jensen et al., 2003a).

Muskeldegeneration drabbar nötkreatur och då främst kalvar som släpps ut på vårbete. Unga plantor innehåller ofta hög andel fleromättade fettsyror och behovet av E-vitamin och selen blir större. NMD påverkar skelettmuskulaturen och djur som insjuknar får svaga benmuskler och därmed svårt att stå upp eller att röra sig. De blir svaga i nackmuskulaturen och kan ha svårt att hålla upp huvudet. Hjärtmuskulaturen kan också bli påverkad, vilket ofta leder till döden (Mc Donald et al., 1988).

Vid perioden runt kalvning är förekomsten av *mastiter* vanligast. Vid denna tid är nivåerna av vitamin E i blodet som lägst. Det finns många bevis för att brist på vitamin E är kopplat till förekomst av mastit. Extra tillskott av vitamin E i perioden runt kalvning har visat sig minska antalet mastiter (Smith, 1986; Hogan et al., 1993; Politis et al., 1995). Andra försök visar att E-vitaminnivåerna i plasma och mjölk är lägre hos mastitkor än hos friska kor (Knudsen et al., 2001). Det tycks även finnas ett samband mellan ökat antal fall av *kvarbliven efterbörd* med selen- och E-vitamin brist. Antal fall av bibehållen placenta, som i normala fall avges efter tolv timmar, kan reduceras vid injektioner av selen och E vitamin. Det är troligen selen som har störst verkan, medan E-vitamin tros kunna förbättra processen (NRC, 2001). Flera studier har visat en tydlig effekt av att tillskott av E-vitamin och selen reducerat antalet fall av bibehållen placenta hos kor. Störst effekt har setts då E-vitamin och selen getts i kombination med varandra (Harrison et al., 1984; Eger et al., 1985; Mueller et al., 1989).

Eftersom vitamin E är en del av immunsystemet kan brist på vitaminet leda till ett *sämre försvar av bakterieinfektioner*. Tillskott av Vitamin E i fodret ökar förstörelsen av både *Staphylococcus aureus* och *Escherichia coli* (Hogan et al, 1993). Försök visar

också att kor som hade en högre andel selen i blodet minskade risken för infektioner, även infektioner som orsakats av *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces pyogenes* och *Corynebacterium* (Jukola et al., 1996).

E-vitaminkällor

Vitamininnehållet varierar i olika fodermedel och är dessutom beroende på hur fodermedel skördas, lagras och processas. Variationen beror även på botanisk sammansättning och utvecklingsstadium, blad innehåller 4-11 gånger mer E-vitamin än strå. Det råder även ett motsatsförhållande mellan D-vitamin respektive β -karotin och E-vitamin. Med tiden på fältet för förtorkning ökar D-vitaminhalten samtidigt som innehållet av β -karotin och E-vitamin sjunker. E-vitaminförlusterna i ensilage kan öka vid syratillsättning och med ökad vattenhalt (Carlsson, 2000). E-vitamininnehållet i kraftfoder skiljer sig stort mellan olika typer av kraftfoder och om de processats. T.ex. så innehåller rå sojaböna hög koncentration av vitamin E medan rostade sojaböner inte innehåller mycket vitamin (Weiss, 1999). I ett försök jämfördes olika lagringsmöjligheter av ensilage med avseende på vitamininnehåll. Det visade sig att E-vitamininnehållet blev högre vid lagring och ensilering i silo än i rundbalar. Samma studie visade även att syrabehandlat ensilage innehöll mindre vitamin E än obehandlat ensilage (Nadeau et al., 2004).

Grovfoder innehåller förhållandevis mycket E-vitamin. Gröna färskas grödor är de bästa tokoferolkällorna. Däremot är innehållet av E-vitamin relativt lågt i majsensilage, rotfrukter och stråfoder (Knudsen et al., 2001). Innehållet av E-vitamin i kraftfoder är relaterat till koncentrationen av fett i fodret. Högre andel fett medför högre andel vitamin E (Weiss, 1999). Så länge djuren är på bete förmodas de täcka hela sitt vitaminbehov. Vid bra bete kan de också förväntas bygga upp vissa förråd av vitamin E, främst i levern (Carlsson, 2000).

Kor som blivit utfodrade med klöverensilage har visats ge mindre andel mjölk med oxiderad smak än kor som utfodrats med rotfrukter. Detta visar att man kan undvika oxiderad smak i mjölken genom att välja rätt fodermedel. Fodermedel med relativt högt innehåll av E-vitamin bör väljas, som t.ex. gräsensilage framför majsensilage (Knudsen et al., 2001). Det går däremot inte att täcka E-vitaminbehovet genom att enbart utfodra mjölkkor med grovfoder. I ett treårigt projekt på Tingvalls försöksgrård utfodrades korna med endast grovfoder. Efter tre månader under första året upptäcktes smakfel på mjölken. Då gavs korna extra tillskott av vitamin E och smakfelet försvann (Johansson & Sundås, 2002).

Rapsprodukter inklusive helt rapsmjöl är rika på E-vitamin, men användningen begränsas av fetthinnehållet till ca 1 kg rapsmjöl respektive $\frac{1}{2}$ kg rapsolja per ko och dag (Carlsson, 2000). Upp till 3-4 kg kallpressad rapskaka kan däremot utfodras med bibehållen mjölkavkastning (Johansson & Nadeau, 2006). Palmoljan är dubbelt intressant eftersom den ger både β -karotin och E-vitamin. Eftersom fett är mer mättat kan man ge upp till 1 kg olja per ko och dag. Även sojaböner är relativt E-vitaminrika, men liksom för övriga nu aktuella fodermedel bör det utföras en del nyare analyser på såväl obehandlade som processade (exempelvis rostad soja) fodermedel. För övrigt finns endast vetegroddar och luzernpellets i kommersiell tillverkning i Sverige, men dessa kan inte betraktas som egentliga ”vitaminfodermedel” utan mer som vitaminrika fodermedel (Carlsson, 2000).

Vitamin A

Den viktigaste A-vitaminkällan för idisslare är gröna växter som innehåller flera former av karotiner eller provitamin A. Man känner till 500-600 olika karotiner, men endast 50-60 är biologiskt aktiva. Högst provitamin A aktivitet har α -, β -, γ -karotin samt cryptoxantine och ungefär 95-99 % av karotinet finns i form av β -karotin som omvandlas i djuren till A-vitamin (Eriksson et al., 1972; McDowell, 2000). Omvandlingen sker i tarmväggen och hos idisslare krävs 5 μ g β -karotin för 1 μ g vitamin A. Ett mg av β -karotin motsvarar 400 IE A-vitamin.

Naturligt förekommer vitamin A i alkoholformen retinol (all-trans-vitamin A (McDowell, 2000; Jensen, 2003c). Ren vitamin A finns endast i animaliska produkter som torskleverolja (Eriksson et al., 1972). Syre och sura miljöer kan förstöra retinoler och ljus kan katalysera dubbelbindningsisomerisation (Blomhoff, 1994).

Nästan all retinol transporteras med chylimikroner till målvävnaderna, främst levern men även till benmärg, muskler, njurar och andra vävnader med extensiv cellproliferering och differentiering. Retinol binds in av s.k. retinol binding proteins (RBP) som bildas i levern (Blomhoff, 1994). Retinol lagras och transporteras bundet till RBP. I målvävnaderna oxideras retinol till reinalaldehyd och i många vävnader kan denna omvandlas till retinolsyra (Chew, 1987). Ungefär 50-90 % av kroppens totala retinolinnehåll finns lagrat i levern (Blomhoff, 1994; Jensen et al., 2003 DJF). Kons lever antas innehålla 45 μ g ackumulerat A-vitamin/g lever (McDonald et al., 1995) och detta lager kan räcka upp till ett år (Jukola, 1994). A-vitamin lagras som retinylester, främst retinylpalmitat. För att A-vitaminerna ska kunna mobilieras från levern behövs zink och proteiner som påverkar syntesen av RBP (McDowell, 2000).

Karotiner transporteras också med chylimikroner, men de lagras inte i levern i samma utsträckning som retinol. Karotiner lagras i fettvävnad och djur som utfodrats med färskt gräs lagrar in mer karotiner än djur som utfodrats med konserverat gräs, därmed får djurens fett en gulaktig färg (McDowell, 2000).

Funktion

Vitamin A spelar en central roll i utvecklingen av synen. När 11-cis-retinal kombineras med proteinet opsin bildas rhodopsin. Rhodopsin bryts ner av den fotokemiska processen som gör att djuret kan se. När de utsätts för ljus bryts rhodopsin ner (Pond et al., 1995; McDowell, 2000). Brist på vitamin A leder till nattblindhet, nyctalopia, och vid långvarig brist blindhet. Blindhet inträffar när en tillbakabildning sker av ögats känsliga delar när ögat inte får opsin. Hos kor kan man observera rinniga ögon (McDowell, 2000).

A-vitamin behövs för att bygga upp normala *epitelceller* som skyddar kroppens organ och håligheter (Mc Dowell, 2000).

Vitamin A har en viktig roll genom att *öka sjukdomsresistensen* hos djur. Brist på vitamin A ger försvagat *immunförsvar*. I undersökningar har man sett att injektioner av retinylpalmitat ökar djurens skydd mot bakterie- och svampinfektioner. Vid tillskott av vitaminet minskar antalet parasitangrepp (Chew, 1987). Lymfoidorganens funktion och tillväxt är beroende av vitamin A och β -karotin, vid brist försämras dessa funktioner. Lymfocyternas förmåga att lokalisera och förflytta sig påverkas också av

vitamin A. Detta tros ske genom att lymfocyternas cellmembran och dess glykoproteiner inte bildas normalt, vilket leder till minskad förmåga hos lymfocyterna att känna igen antigen och till kontakt mellan varandra. Även det humoral försvaret mot infektioner påverkas av vitamin A. Man har funnit att tillskott av retinol eller retinylpalmitat till möss ökat koncentrationen av antikroppar i serum när de immuniserats med antigen (Chew, 1987).

Makrofager bekämpar infektioner genom fagocytos och utsöndrar interleukin-1, IL-1. Dess förmåga att utnyttja dessa mekanismer har visat sig öka vid tillskott av vitamin A. Neutrofilers förmåga till fagocytos minskar vid vitaminbrist. Tillskott av retinol eller retinolsyra ökar förmågan till fagocytos och intracellulär bekämpning. Detta har visats i t.ex. ökad förmåga att bekämpa *Escherichia coli* och *Staphylococcus aureus*.

Vitamin A verkar som *antioxidant* genom att skydda neutrofiler och andra celler (Chew, 1987). Mjölakens innehåll av antioxidanter som β -karotin är viktig för att den inte ska oxidera och få smakfel. Vitamin A är även viktig för en normal *reproduktion* och för en normal *benutveckling* (McDowell, 2000).

Absorption och behov av vitamin A

Absorption av karotiner sker genom passiv diffusion. Absorptionen beror på tillförd mängd och fodrets sammansättning. Om större mängder tillförs minskar utnyttjandet. Andra antioxidanter och fett i fodret gynnar absorptionen (Eriksson et al. 1972). Nedbrytningen av vitamin A i vommen varierar, men är igenomsnitt ca 40-50 % (Jukola, 1994).

Retinylestrar i fodret hydrolyseras i tarmlumen, flera enzymer är involverade, t.ex. lipas från bukspottkörteln. Transporten av retinylestrar sker genom faciliterad diffusion (Blomhoff, 1994). När estrarna har hydrolyserats till retinol absorberas de in i mucosacellerna där de estrifieras igen. Retinylestrarna infogas i chylimikroner, vilka exocyteras ut i lymfsystemet där de transporteras runt i cirkulationen (Blomhoff, 1994). 20-80 % av fodrets karotiner absorberas och kommer djuret tillgodo (Jensen et al., 1999).

Djuren kan inte syntetisera karotiner de novo utan är beroende av tillförsel av β -karotin via födan (McDowell, 2000). Enligt NRC (2001; Tabell 1) rekommenderas ett intag på 75000 IE per dag till mjölkkor, men i USA är det praxis att utfodra kor med 158000 IE per dag (Weiss, 1998). Danska och Svenska rekommendationer visas i tabell 1 (Strudsholm et al., 1999; Spörndly, 2003).

Om man fodrar med ett grovfoder med högt innehåll av β -karotin täcks normalt mjölkens behov (Jensen, 2003b). Det största behovet har kon under dräktighet och kring kalvning. Under betesgång lägger djuret upp ett förråd av vitamin A, därför är det svårt att ge några allmängiltiga rekommendationer (Eriksson, 1972). Halten av β -karotin i blodplasma ger en bra indikation på djurets vitaminstatus och ett bra gräsensilage ger koncentrationer som är jämförbara med djur på bete (Jukola et al., 1996).

A-vitamininnehåll i plasma

Eftersom nästan all vitamin A deponeras i levern är nivån i blodet starkt reglerat. Koncentrationen bör vara mellan 0,2 och 0,4 $\mu\text{g/ml}$ plasma (Jensen et al., 1999). Detta

överensstämmer med uppgifter från Payne (1989) som menar att kon har ett optimalt foderintag om nivån i plasma $>0,25 \mu\text{g/ml}$ och enligt McDowell (2000) är den optimala koncentrationen i plasman $0,4 \mu\text{g/ml}$.

Jukola et al. (1996) menar att tillskott av extra β -karotin endast ger effekt på juverhälsan om innehållet i blodplasman är $<3 \mu\text{g/ml}$.

A-vitamininnehåll i mjölk

Jensen et al. (1999) har visat att sekretionen av retinol och β -karotin till mjölken varierar under laktationen, β -karotin sekretionen ökar linjärt under hela perioden och retinol sekretionen ökar linjärt från vecka fem tills kon går i sin. Mekanismen bakom hur retinolestrar frisätts ut i mjölkfettet är relativt oklar, men den dagliga mängden av β -karotin som utsöndras är beroende av mjölmängden och mjölkens fetthinnehåll. Mjölmängden har en negativ korrelation, medan mjölkens innehåll av fett har en positiv korrelation till mjölkens innehåll av β -karotin. Innehåll är också väldigt beroende av kons konsumtion och det är normalt högst under vår/sommar då färskt gräs på bete har ett högt innehåll. Innehållet varierar även beroende på ras. T.ex. omvandlar och absorberar Holstein vitamin A, vilket ger vitt mjölkfett, medan Jersey absorberar β -karotin, vilket ger gult mjölkfett (McDowell, 2000). Levern spelar en stor roll för sekretionen eftersom den lagrar retinol (Jensen et al., 1999). Nivån av vitamin A i mjölken varierar mellan $0,3$ och $0,9 \mu\text{g/ml}$ (Jensen et al., 1999 se DJF). I en Dansk undersökning innehöll sommarmjök från 18 ekologiska besättningar (olika raser) $0,23 \mu\text{g } \beta\text{-karotin/ml}$ mjölk (Jensen, 2003c).

β -karotin fungerar som antioxidant i mjölk, vilket är viktigt för att den inte ska oxidera och få smakfel. Eftersom den totala sekretionen är oberoende av mjölmängden minskar koncentrationen av dessa antioxidanter med större mängd mjölk (Jensen et al., 1999).

Colostrum innehåller höga koncentrationer av β -karotin och A-vitamin eftersom kalven inte hunnit bygga upp något lager och behöver snabb tillgång till vitaminet (McDowell, 2000).

Symptom vid brist på vitamin A

De lager av vitamin A som finns i levern räcker vid en längre tids brist vilket försvårar försök då djuren inte får brist samtidigt och symtomen kan variera mycket (Chew, 1987). Brist inträffar när kroppen tar av förrådet och koncentrationen i blodet blir för lågt. Brist på andra näringsämnen som t.ex. zink och protein påverkar metabolismen av vitamin A och försämrar upptag och mobilisering av vitaminet (McDowell, 2000).

Vitamin A är viktigt för *fungerande kroppsvävnader* som ben, epitel samt andra ytstrukturer och hinnor, de flesta bristsymtom är relaterade till dessa funktioner. Det första symtomet är ofta *minskat foderintag* vilket gör det svårt att veta vilka senare symtom som beror av näringsbrist eller brist på vitamin A (Chew, 1987).

Brist på vitamin A leder till *försvagat immunförsvar*, vilket leder till minskad motståndskraft mot infektioner. Normala koncentrationer av vitamin A och β -karotin är viktigt för att minska antal fall och svårighetsgrad av *mastit*. Ett skadat epitel ger inte tillräckligt skydd för mjölkkörtlarna mot patogena bakterier (t.ex. Chew, 1987;

McDowell, 2000). Brist kan även ge minskad bildning av rhodopsin vilket kan leda till *nattblindhet* (Pond et al., 1995). Andra symtom är *led-ödem* och *diarré*. Brist på vitamin A leder även till *nedsatt värmetolerans*, djur med brist hässjar mer (McDowell, 2000).

Om kon har brist under dräktighet och kring kalvning kan *kalven antingen aborteras eller födas mycket försvagad* och få svårt att resa sig och dia. Infektioner drabbar lätt den svaga kalven som kan få väldigt svåra diarréer vilka ofta leder till döden. Andra symtom som kan ses hos kalvar är vattniga ögon, svårt att gå och stå samt ofrivilliga ryckningar (McDowell, 2000).

A-vitaminkällor

Innehållet av β -karotin i gräsensilage är mellan 75 och 200 mg/kg ts och i hö mellan 5 och 100 mg/kg ts. Om man fodrar med ett grovfoder med högt innehåll av β -karotin täcks normalt mjölkkons behov (Jensen, 2003c). Karotininnehållet i vallensilage växlar med växtart, utvecklingsstadium, gödsling och konserveringsmetod. Innehållet minskar i senare utvecklingsstadium. Karotininnehållet är högre i blad än i stjälk hos baljväxter och gräs. Baljväxterna har i allmänhet högre innehåll än gräs. Mängden karotin minskar från första till andra skörd för att sedan öka i tredje eller fjärde skörd. Vitaminet är känsligt för fukt, hetta och sol vilket kan ge strukturförändringar. Därför minskar ensileringsprocessen den biologiska aktiviteten i karotinerna (McDowell, 2000). Innehållet sjunker normalt under ensilering (Jukola, 1994), men våra tidigare studier (Nadeau, 2003; Nadeau et al., 2003) visade att karotininnehållet i grönmassan kan bibehållas om förutsättningarna är goda. Däremot fann vi lägre värden av β -karotin i grönmassan än förväntat. Under lagring minskar ensilagens innehåll av karotiner (Eriksson et al., 1972; Nadeau et al., 2004).

Övriga naturliga källor för vitamin A (fodertran, luzernpellets, raffinerad palmolja) finns endast i begränsad omfattning och är dyra att köpa på grund av produktions- och transportkostnader (Carlsson, 2000).

Syfte

Huvudsyftet med projektet var att undersöka om försörjningen av vitaminerna A och E är tillfredsställande hos mjölkkor, som utfodrats med 100 % ekologiskt foder utan tillsats av vitaminer, under två hela stall- och betesperioder. Dessutom studerades hur mjölkproduktion, mjölkens sammansättning, mjölkqualität och djurhälsa påverkades av en utfodring med 100 % ekologiskt foder utan tillsats av vitaminer i två år. Effekter på mjölkqualität undersöktes intensivt under andra året och har presenterats i andra rapporter (Danielsson et al., 2006; Danielsson et al., 2007).

Material och metoder

Djur

Försöket genomfördes på Tingvall, en ekologisk försöksgård som tillhörde Hushållningssällskapet Väst. Under två laktationer (03/04; år 1 samt 04/05; år 2) studerades 50 första- och flergångskalvade kor av SLB ras med 25 kor, varav 5 förstakalvare, utfodrades utan syntetiska vitaminer (UV) och med 25 kor varav 6 förstakalvare, utfodrades med syntetiska vitaminer (MV). Inför år 2 ersattes 10 utgångna kor i UV-gruppen och 11 i MV-gruppen med nya kor (varav 4 respektive 5 var förstakalvare). Korna hölls i en kall lösdrift, där de två försöksgrupperna med 25 kor vardera vistades i var sin fälla. Korna mjölkades två gånger per dag i en mjölkgrup med Alfa Laval mjölkmaskiner. Mjölkningsstartade kl. 05.30 samt 15.30. Mjölkvastningen i besättningen var 9873 och 10383 kg ECM per ko och år för kontrollåren 2003/2004 respektive 2004/2005.

Försöksuppläggning

Försöket startade med en förperiod under sommaren 2003. Vallensilaget skördades då för att nå ett optimalt vitamininnehåll, utan tillsatsmedel. Detta beslut grundade sig på resultaten från en tidigare studie om vitamininnehåll i grovfoder som genomfördes på SLU i Skara under år 2001-2002 med finansiering från Jordbruksverket (Nadeau et al., 2003; Nadeau et al., 2004). Den första november 2003 kalvade den första kon in i försöket. Kor och dräktiga kvigor parades två och två med hänsyn till kalvningsdatum, laktationsnummer, tidigare mjölkproduktion (kor) och härstamningsindex (kvigor). Därefter randomiserades korna i paret till någon av följande behandlingar.

Behandling 1 (UV): 100 % ekologisk foderstat i form av blandfoder med ett mineralfoder som ej innehåller syntetiska vitaminer.

Behandling 2 (kontroll, MV): 100 % ekologisk foderstat i form av blandfoder med ett mineralfoder som innehåller syntetiska vitaminer (Effekt normal från Lactamin)

Senaste 12 månaders mjölkvastning eller härstamningsindex (kvigor) och laktationsnummer var så lika som möjligt mellan behandlingsgrupperna. Korna började utfodras med respektive mineralfoder vid omställningen till sinfoderstat eller senast en månad före beräknad kalvning för kvigor (Tabell 2).

Tabell 2. Innehåll av mineraler och syntetiska vitaminer i mineralfodret 2003-2005

Foder	Ca	P	Mg	Se	Vit E	Vit D	Vit A
	g	g	g	mg	mg = IE	IE	IE
Effekt utan vitamin	146	65	92	40	0	0	0
Effekt normal	146	65	92	40	3000	100000	400000

Betesperiod

Korna på Tingvall släpptes på bete i maj respektive år. Korna vistades i en gemensam betesfälla, oavsett vilken vitaminingrupp de tillhörde. De utfodrades individuellt och för hand med kraftfoder respektive mineralfoder inomhus i samband med mjölkningsstart. Under betesperioden från maj till september ersattes 8,9 kg ts ensilage med bete då

korna bara var inne under mjölkningen. Även sinkorna gick i en gemensam betesfälla. Alla sinkor fick mineralfoder utan vitaminer under betesperioden.

Datainsamling

Provtagning och analys av foder

Strax innan respektive vallskörd besiktigades ett flertal vallar och prover för botanisk sammansättning togs på 3-4 större fält (Tabell 3).

Tabell 3. Botanisk sammansättning (% av ts) hos vallar som användes till ensilage, variation från 3-4 provfält visas

Datum	Skörd	Andel (% av ts)		Utvecklingsstadium
Juni 03	1:a	Klöver	18 - 45	Bladstadiet till begynnande knoppning
		Gräs	53 - 78	
		Ogräs	0 - 3	
		Dött	0 - 2	
Juli 03	2:a	Klöver	19 - 36	Rödklöver i begynnande knoppning
		Gräs	63 - 72	Vitklöver i full blomning
		Ogräs	0 - 8	Bladstadiet med 30 % av gräsen i axgång
		Dött	1 - 4	
Maj 04	1:a	Klöver	25 - 37	Bladstadiet, klöver har mindre frostsador på de övre bladen
		Gräs	62 - 75	Bladstadiet
		Ogräs	0 - 1	
		Dött	0 - 1	
Juli 04	2:a	Klöver	10 - 70	Rödklöver i bladstadiet. Vitklöver i blomning
		Gräs	30 - 86	Bladstadiet, 40 % av gräsen har begynnande ax
		Ogräs	0 - 3	
		Dött	0 - 1	

Vid skörden vägdes och provtogs grönmassa från respektive fält. Proven slogs samman till ett prov per silo och analyserades m.a.p. α -tokoferol och β -karotin (Tabell 4) samt torrs substans, neutral detergent fibre (NDF), vomvätskelöslig organisk substans (VOS) och råprotein så att innehållet av omsättbar energi, AAT och PBV kunde skattas.

Under hela försöket togs ensilageprov regelbundet varje vecka. Det analyserades för torrs substans och slogs sedan samman till månadsprov vilka analyserades på vitamininnehåll (Tabell 4). Proverna sammanslogs vidare till ett per silo och analyserades för övrigt näringsinnehåll (VOS, råprotein, NDF och mineraler; Tabell 5) och hygienisk kvalitet (pH, socker och syror; Tabell 6) enligt gängse metoder hos AnalyCen, Lidköping och Kungsängens forskningslaboratorium, SLU.

För att kunna sätta samman en 100 % ekologisk foderstat med högt innehåll av naturliga vitaminer analyserades även skördad korn, inköpta ärter, åkerböna, rapskaka, rapsfrö och vete för vitamin E och β -karotin. De fodermedel som användes i foderstaten var ensilage, ärter, rapskaka och korn. Dessutom användes rågvet under

år 2. Prover togs på spannmål, örter, och rapskaka en gång per vecka som sammanslogs till ett prov per parti för vitaminanalys (Tabell 7) och övrigt näringsinnehåll (även råfett analyserades i kraftfodermedlen, Tabell 5). Sinkorna utfodrades båda åren med Prover på balat ensilage samt gräshalm (halm + insådd), som utfodrades båda åren till sinkorna, togs ut för analys av vitaminer och övrigt näringsinnehåll (Tabell 8 och 9).

Tabell 4. Vitamininnehåll i grönmassa och ensilage 2003-2005

Fodermedel	α -tokoferol mg/kg ts	IE E-vit per kg ts	β -karotin mg/kg ts	IE A-vit per kg ts
sommar 2003				
Grönmassa, silo 1, skörd 1	36,9	56,1	16,6	6640
Grönmassa, silo 2, skörd 1	40	60,7	27,5	11000
Grönmassa, silo 3, skörd 2	41,8	63,7	30,3	12120
år 1 (2003/04)				
Ensilage Nov*	17,0	25,0	58,0	23191
Ensilage Dec	71,6	106,7	63,6	25432
Ensilage Jan	63,9	95,2	59,0	23619
Ensilage Feb	79,1	117,8	58,9	23572
Ensilage Mars	75,6	112,6	53,8	21537
Ensilage Apr	55,7	83,1	44,2	17666
Ensilage Maj	60,8	90,6	56,8	22730
Ensilage sommar	61,0	90,9	57,9	23155
sommar 2004				
Grönmassa, silo 1, skörd 1	54,1	80,6	8,3	3332
Grönmassa, silo 2, skörd 1	97,0	144,6	34,0	13607
Grönmassa, silo 3, skörd 2	73,4	109,4	36,6	14645
Grönmassa, limpa, skörd 2	38,8	57,8	25,0	9999
år 2 (2004/05)				
Ensilage Okt	41,6	62,0	51,0	20385
Ensilage Nov	47,3	70,4	60,1	24036
Ensilage Dec	29,3	43,6	46,5	18597
Ensilage Jan	29,0	43,1	44,4	17741
Ensilage s Feb	84,8	126,3	62,3	24924
Ensilage Mars	59,0	88,0	44,1	17647
Ensilage April	58,9	87,7	39,6	15843
Ensilage Maj	72,2	107,5	54,9	21968
Ensilage sommar	38,5	57,4	31,0	12409
Ensilage bal sensommar	89,1	132,7	39,7	15865

Tabell 5. Medelvärden och standardavvikelse för näringsvärden i fodret som användes i försöket under år 1 (2003/2004) respektive år 2 (2004/2005), ensilage n=3, korn n=1, rågvete n=1, ärtor n=1, rapskaka n=2 år 1, rapskaka n=1 år 2

Fodermedel	Ts (%)	Energi (MJ/kg ts)	Råprotein (g/kg ts)	AAT ¹ (g/kg ts)	PBV ² (g/kg ts)	NDF ³ (g/kg ts)	Råfett (g/kg ts)
Ensilage, år 1	23±3	9,7±0,6	140±7	67±1,5	23±9,1	548±28	i.a. ⁴
Ensilage, år 2	33±8	11,4±0,4	129±23	70±4,6	17±9,90	488±17	i.a.
Korn år, 1	84	13,2	112	93	-40	200	26
Korn, år 2	84	13,1	123	92	-27	165	28
Rågvete, år 2	85	14,1	118	99	-44	125	23
Ärtor, år 1	86	13,8	210	97	54	209	22
Ärtor, år 2	86	14,0	236	99	77	108	20
Rapskaka, år 1	91±0	17±0	263±8	78±0,7	143±7,1	250±5	239±4
Rapskaka, år 2	93	17	281	79	161	192	246

¹AAT = aminosyror absorberade i tunntarmen.

²PBV = proteinbalans i vommen.

³NDF = neutral detergent fibre.

⁴i.a. = inte analyserad

Tabell 6. Hygienisk kvalitet i vallensilage, ensilerat utan tillsatsmedel, lagrat i plansilo, anges som % av ts där inget annat har angetts (n=3)

	År 1 (2003/04)	År 2 (2004/05)
pH	4,2	4,0
Socker, g/kg ts	1,4	-
Mjölksyra	12,3	8,5
Ättiksyra	3,4	2,0
Propionsyra	<0,3	<0,06
Smörtsyra % av prov	<0,01	<0,01

Tabell 7. Vitamininnehåll i ärtor, rapskaka och spannmål 2003-2005 (n=1)

Foder	α -tokoferol mg/kg foder	IE E-vit per kg foder	β -karotin mg/kg foder	IE A-vit per kg foder
Kraftfoder för foderstatsplanering				
Ärtor	2,4	4,4	-	-
Rapskaka	93,5	178	-	-
Korn	13	32	-	-
Kraftfoder år 1 (2003/04)				
Ärtor	2	3	-	-
Rapskaka	64	95	0,7	280
Korn	15	22	-	-
Kraftfoder år 2 (2004/05)				
Ärtor	0,8	1,2	-	-
Rapskaka	48	72	1,0	400
Korn	19	28	-	-
Rågvete	12	18	-	-

Tabell 8. Vitamininnehåll i Tingvalls fodermedel till sinkorna (n=1)

Fodermedel	α -tokoferol mg/kg ts	E -vitamin IE per kg ts	β -karotin mg/kg ts	IE A-vit per kg ts
Gräshalm (halm + insådd)	11	16	2,6	1026
Rundbalsensilage	23	35	2,9	1150

Tabell 9. Näringsvärden i rundbalsensilage och gräshalm (halm med vall-insådd) till sinkorna (n=1)

Fodermedel	Ts (%)	Energi (MJ/kg ts)	Råprotein (g/kg ts)	AAT ¹ (g/kg ts)	PBV ² (g/kg ts)	NDF ³ (g/kg ts)
Rundbalsensilage	41	8,8	105	65	-6	569
Gräshalm (halm + insådd)	42	10,2	139	72	15	550

¹AAT = aminosyror absorberade i tunntarmen.

²PBV = proteinbalans i vommen.

³NDF = neutral detergent fibre.

Under betesperioden togs även betesprov. Provet togs 3 dagar före ordinarie provmjölkning i den fålla som korna kom att beta i provmjölkningsdagen. Detta gjordes vid varje provmjölkning hela betessäsongen (tom juli år 2). Proverna analyserades för vitamininnehåll (Tabell 10) samt slogs ihop till ett betesprov för övrigt näringsinnehåll (Tabell 11). År 1 togs även ett prov i sinkohagen under sensommaren (Tabell 10). Provet togs genom att följa en tänkt linje genom fållan, i form av ett W. Vid nio till tolv ställen togs prover på ett sätt som ska efterlikna kornas val av tuggor. Inom en tänkt cirkel på ca 3 m i diameter togs cirka 25 ”tuggor” (Frame, 1993). Om ett provtagningsställe bestod av något som korna troligen inte betar (t ex. ogräs) togs inget prov där.

Tabell 10. Vitamininnehåll i betet

Foder	α -tokoferol mg/kg ts	IE E-vit per kg ts	β -karotin mg/kg ts	IE A-vit per kg ts
år 1				
Bete Maj	40,2	59,9	28,9	11570
Bete Juni	38,8	57,8	8,2	3275
Bete Juli	36,5	54,4	29,6	11857
Bete Aug	47,3	70,4	43,2	17268
Bete Sep	45,6	68,0	98,9	39574
sinkofålla Sep	24,2	36,0	48,3	19322
år 2				
Bete Maj	31,0	46,2	84,2	33691
Bete Juni	18,4	27,5	52,2	20864
Bete Juli	30,6	45,6	76,2	30485

Betet på Tingvall innehöll låga värden av α -tokoferol och β -karotin. Svenska fodermedelstabellen anger att bete innehåller omkring 129 mg α -tokoferol per kg ts respektive 300 mg karotin per kg ts (Tabell 11; Spörndly, 2003).

Tabell 11. Näringsvärden i sammanslaget betesprov sommaren 2004 och 2005

Fodermedel	Ts (%)	Energi (MJ/kg ts)	Råprotein (g/kg ts)	AAT ¹ (g/kg ts)	PBV ² (g/kg ts)	NDF ³ (g/kg ts)
Bete 2004	20	10,9	182	71	59	380
Bete 2005	19	10,9	144	71	22	392

¹AAT = aminosyror absorberade i tunntarmen.

²PBV = proteinbalans i vommen.

³NDF = neutral detergent fibre.

Provtagningar kor

Fem blodprov togs per ko och laktation. Första provet togs ca tre veckor innan kalvning, då korna utfodrades enligt sinfoderstat. Kalvningsprov togs inom 24 timmar efter kalvning. Sedan togs prov under tidig (3-4 veckor efter kalvning), medel (laktationsmånad 3-5) och sen laktation (laktationsmånad 7-9). Till blodproven användes vaccutainerrör med heparin så att blodet ej kunde koagulera. Efter varje provtagning centrifugerades provet vid 3000 varv i 15 minuter så att plasman separerades och kunde pipetteras ner i plasmarör. Plasman frystes sedan ner i cirka -20°C i väntan på vitaminanalys.

Fem mjölkprov togs per ko och laktation. Det första mjölkprovet togs från råmjölken direkt efter kalvning. Sedan togs ett prov ca fyra dagar efter kalvning och resterande prover togs vid morgonmjölkningen samma dag som blodprovstagningen skedde. Direkt efter provtagning frystes proverna ner (-20 °C) i väntan på vitaminanalys.

Provmjölkningen utfördes var 14:e dag under de tre första laktationsmånaderna, därefter en gång i månaden. Mjölkavkastningen mättes med recorderbehållare och mjölken analyserades med avseende på fett, protein, urea och celltal. Samlingsprov från respektive grupp togs i samband med provmjölkningarna för lukt- och smakfölsbedömning av Steins Laboratorium AB. Resultatet presenteras i Danielsson et al. (2006) och Danielsson et al. (2007).

Övriga registreringar

En gång i månaden vägdes och hullbedömdes korna enligt en 5-gradig skala, där ”1” är mycket mager och ”5” är mycket fet (Edmonson et al., 1989). Vägning och hullbedömning utfördes av samma person under hela försöket. Alla avvikelser i hälsa noterades kontinuerligt. Fruktsamhet följdes via antal semineringar per dräktighet, antal dagar från kalvning till 1:a insemination (tomperiodens längd) samt kalvningsintervall.

Foderstater

Korna utfodrades med ett blandfoder och individuellt med kraftfoder i transponderstyrda kraftfoderautomater. Alla ingående fodermedel i blandfodret vägdes och registrerades.

Beroende på laktationsmånad användes två olika foderstater, högmjolkare 1-3 månader efter kalvning fick maximalt 50 % kraftfoder. Efter 3:e laktationsmånaden gavs maximalt 40 % kraftfoder (Tabell 12). Detta enligt KRAV: s regler för ekologisk produktion (KRAV-regler, 2004). Foderstaten var 100 % ekologisk och endast närproducerade fodermedel användes. Näringsinnehållet i totalfoderstaten visas i tabell 13.

Tabell 12. Exempel på de i totalfoderstaten ingående fodermedlen för tidig (1-3 månader efter kalvning, max 50 % krf) och senare laktation (max 40 % krf), i maj 2004 (försöksår 1) respektive maj 2005 (försöksår 2)

	1-3 månader		>3 månader	
	ÅR 1	ÅR 2	ÅR 1	ÅR 2
Grovfoder				
Ensilage (kg ts)	12,2	12,5	12,2	12,5
Krautfoder				
Korn (kg ts))	4,6	3,7	3,7	2,5
Rågvete (kg ts)		2,3		1,6
Ärter (kg ts)	4,8	3,3	3,7	2,3
Rapskaka (kg ts)	2,7	2,8	1,8	1,9
Mineral (kg)	0,2	0,2	0,15	0,2
Totalfoder (kg ts)	24,5	24,8	20,6	21,0

Tabell 13. Exempel på näringsinnehållet i foderstaten för tidig (1-3 månader efter kalvning, (max 50 % krf) och senare laktation (max 40 % krf), i maj 2004 (försöksår 1) respektive maj 2005 (försöksår 2), anges i g/kg ts där inget annat har angivits

	1-3 månader		>3 månader	
	ÅR 1	ÅR 2	ÅR 1	ÅR 2
Oms energi ¹ , MJ/kg ts	12,1	12,9	11,8	12,7
Råfett	46	47	41	41
Råprotein	157	160	152	155
AAT ² (g/MJ)	6,5	6,4	6,6	6,4
PBV ³ , (g/dag)	621	587	468	422
EPD ⁴ , % av råprotein	78	78	78	78
Våmstb Rp ⁵	34	35	32	33
NDF ⁶	394	307	428	336
EFD ⁷ , % av NDF	48	53	48	54
Stärkelse	226	226	183	183

¹Oms. energi = omsättbar energi.

²AAT = aminosyror absorberade i tunntarmen.

³PBV = proteinbalans i våmmen.

⁴EPD = effective protein degradation = andel våmnedbrytbart råprotein.

⁵Våmstb Rp = våmstabilt råprotein.

⁶NDF = neutral detergent fibre.

⁷EFD = effective fiber degradation = andel våmnedbrytbar fiber.

Vitamininnehåll i foderstaterna

När foderanalyserna hade utförts beräknades foderstatens innehåll av α -tokoferol och β -karotin för respektive laktationsstadium i båda grupperna. Medelvärdet för alla

månaders ensilage var 90 IE och 22 613 IE år 1 samt 82 IE och 18 941 IE α -tokoferol respektive β -karotin per kg ts, vilket användes i beräkningen (Tabell 14).

Tabell 14. Foderstatens innehåll av A och E-vitamin under de tre första laktationsmånaderna, då korna fick en kraftfodergiva på maximalt 50 % samt efter tre månader, då korna fick en kraftfodergiva på maximalt 40 % under år 1 (2003/04) och år 2 (2004/05). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer

	Laktationsmånad 1-3				Laktationsmånad >3			
	ÅR 1		ÅR 2		ÅR 1		ÅR 2	
	UV	MV	UV	MV	UV	MV	UV	MV
α -tokoferol, totalt, IE/dag	1531	2131	1421	2021	1392	1992	1298	1898
α -tokoferol, varav tillskott, IE/dag	-	600	-	600	-	450	-	600
α -tokoferol, varav tillskott, IE/kg ts	-	24,3	-	24,1	-	21,6	-	28,4
β -karotin, totalt, IE/dag	278981	358981	239858	319858	278700	358700	239472	319472
β -karotin, varav tillskott, IE/dag	-	80000	-	80000	-	60000	-	80000
β -karotin, varav tillskott, IE/kg ts	-	3239	-	3213	-	2885	-	3791

Sinkor äter i genomsnitt ca 9 kg ts om dagen (Bergsten et al., 1997). Enligt anteckningar från personalen på Tingvall åt sinkorna i försöket i genomsnitt 1,5 kg ts per dag av rundbalsensilaget och vi räknar då med att de får i sig cirka 7,5 kg ts per dag av gräshalmen (Tabell 15). Sinkorna började vänjas ca två veckor innan kalvning till den foderstat de fick efter kalvningen.

Tabell 15. Vitamininnehållet i sinkornas foderstat innan tillvänjning till foderstat efter kalvning.

	SINKOR	
	UV	MV
α -tokoferol, totalt, IE/dag	173	623
α -tokoferol, varav tillskott, IE/dag	-	450
α -tokoferol, varav tillskott, IE/kg ts		49
β -karotin, totalt, IE/dag	9420	69420
β -karotin, varav tillskott, IE/dag		60000
β -karotin, varav tillskott, IE/kg ts		6557

Vitaminanalys

Alla vitaminanalyser utfördes i Danmark på Danmarks Jordbruksforskning i Foulum. High performance liquid chromatography (HPLC) användes för att kunna bestämma andelen β -karotin och α -tokoferol i proven. Det är en väl använd metod för att detektera vitaminer. HPLC:n som användes vid våra analyser var en Perkin Elmer LC

pump serie 410, en Prekin-Elmer Advanced LC Sample Processor ISS 200 och en Perkin-Elmer LC 240 fluorescence detector (Perkin-Elmer GmbH, Überlingen, Tyskland). Pumpen innehöll en organisk vätska, i vårt fall heptan. I Autosamplern ställdes alla prover som detekterades och de var preparerade i så kallade vials. HPLC:n innehöll en siliciumoxidkolonn på 5 µm i diameter. När provet gått igenom kolonnen har alla hydrofila ämnen i provet fastnat i kolonnen och den flouoserande detektorn kan hitta tokoferolerna vid en våglängd på 290 nm (Jensen, 2004).

För att separera de aktiva komponenterna av vitaminerna blandades provet med en vattenlöslig lösning, i vårt fall användes etanol och metanol. Alkoholerna fördelas in i vattenlösliga och organiska lager och faller ut proteiner. Därmed underlättas extraktionen av vitaminerna. Även en antioxidant (askorbinsyra) tillsattes eftersom tokoferolerna och karotinerna lätt degraderas under förberedelserna och framförallt i närvaro av O₂. Oxidation av vitaminerna under preparationen skulle orsaka låga värden och icke tillförlitliga resultat. Genom att genomföra preparationen så mycket som möjligt i mörker och vid låg temperatur minskas oxidationsrisken.

Efter tillsats av dessa ämnen försåpades proverna. Försåpningen innebär att de hettas upp tillsammans med kaliumhydroxid, så att en starkt alkalisk miljö bildas. Detta görs för att reducera mängden av organiska ämnen i provet. Detta fulländas genom hydrolys av triglycerider, fosfolipider och andra lipidestrar till mer hydrofila fettsyror och alkoholer. Försåpningen minskar antalet ämnen som skulle blandas samman med tokoferolerna respektive karotinerna och därmed försvåra detektionen. Försåpningen ägde rum i 80°C under 20 minuter för plasma och mjölk och i 30 minuter för foder. Sedan kylades proverna av i kallt vatten. Efter försåpningen följde en organisk extraktion. Den hydrofoba lösningen som tillsattes är en alkan, i vårt fall heptan.

Extraheringen med heptan gjordes två gånger. Mellan varje heptantillsättning centrifugerades proverna i 10 minuter under 3000 varv per minut. Efter första extraktionen har 90 % av vitaminerna nått heptanfasen, efter andra extraktionen har 90 % till av det som fanns kvar i vattenfasen extraherats. Då finns 99 % av vitaminerna som fanns i provet i den fasen som används vid detektionen (Jensen, 2004). Av denna lösning togs cirka en milliliter ut och fördes över i så kallade vials. Dessa används i HPLC:n vid detektionen. De är mörkbruna så inget ljus ska nå lösningen.

Foder

Både grönmasseprover och ensilageprover frystorkades innan vitaminanalysen medan ärter, korn, rågvete och raps endast var frysta och maldes ner till mjöl. Varje foderprov delades upp på 3-4 analyser. På dessa provsvar beräknades sedan ett medelvärde som fick motsvara provets innehåll av vitaminer.

Av varje prov togs 2 gram som fördes över till rundkolvar. Till dessa tillsattes etanol, metanol, askorbinsyra samt kaliumhydroxid.

Proverna försåpades vid 80°C i 30 minuter och i mörker. Under försåpningen spjälkar kaliumhydroxiden triglyceriderna till fria fettsyror samt eventuellt α-tokoferyl acetat till α-tokoferol och acetat. Sedan kylades proverna i kallt vatten och i mörker. Av försåpningsblandningen togs 4 ml ut och överfördes till kulturglas innehållande 2 ml vatten. Därefter extraherades alla prover med 5 ml heptan två gånger. Efter varje

tillsättning av heptan centrifugerades proverna under 10 minuter i 3000 varv per minut. Sedan överfördes heptanfasen till vials för att analyseras med HPLC på β -karotin och vitamin E.

Blodplasma och mjölk

Alla mjölkprover värmdes upp till 40°C i vattenbad. För analys av α -tokoferol och β -karotin behövdes 500 μ l plasma samt 1 ml mjölk som överfördes till kulturglas. Därefter tillsattes etanol, metanol, askorbinsyra, kaliumhydroxid samt vatten.

Proverna försåpades under 20 minuter i 80°C vattenbad. Under försåpningen spjälkar kaliumhydroxiden triglyceriderna till fria fettsyror. Sedan avkyldes proverna i kallt vatten i mörker för att därefter extraheras med 5 ml heptan (2 x 5 ml för mjölkprover). Efter varje tillsättning av heptan centrifugerades proverna under 10 minuter i 3000 varv per minut. Ju gulare heptanfas desto mer β -karotin innehöll blodet respektive mjölken (tydligast i råmjölken), vilket är ett tecken på att korna fått i sig mycket grönfoder. Heptanfasen fördes sedan över till mindre glas, vials för att analyseras på β -karotin och α -tokoferol med HPLC.

Statistik och övrig databehandling

Data från år 1 (2003/04) och år 2 (2004/05) i försöket analyserades separat. Data för vitamininnehåll i plasma och mjölk bearbetades statistiskt med variansanalys genom att använda Proc Mixed Model i SAS (1999). Den statistiska modellen för de tre första värdena runt kalvning inkluderade behandling, ko-par, tid (före, under och efter kalvning) samt samspel mellan behandling och tid. För proven i mitt och sen laktation inkluderade modellen endast behandling och ko-par.

Mjölproduktiondata samt vikt- och hulldata för laktationsmånaderna 1-3, 4-6 och >6 månader bearbetades statistiskt med variansanalys genom att använda Proc GLM i SAS (1999). Den statistiska modellen inkluderade behandling, ko-par, laktationsgrupp (1: laktation 1, 2: laktation 2-3, 3: laktation 4 och äldre kor) samt samspel mellan behandling och laktationsgrupp.

För varje behandlingsgrupp (UV, MV) och år (år 1 och 2) sammanställdes antalet djur som inte haft någon sjukdom (friska) samt antalet djur som haft kalvningförlamning, mastit respektive övriga sjukdomar. Data bearbetades statistiskt (jämförelser för vardera kategori mellan behandlingsgrupper inom år och mellan år inom behandlingsgrupp) med hjälp av Fischer's exact test.

Antal inseminationer per dräktighet samt kalvningsintervall redovisas som medeltal för varje grupp. Medelvärde för alla kor delades även upp efter om de varit seminerade eller betäckta av tjur.

Resultat med ett P -värde mindre än 0,05 betraktades som signifikant och med ett P -värde $0,05 < P < 0,10$ som tendens till signifikans.

Resultat

Mjölkkavkastning och mjölksammansättning

Det fanns inga signifikanta skillnader mellan grupperna med avseende på mjölkkavkastning i kg mjölk och i kg ECM, innehåll av fett och protein i mjölken, antal celler samt ureahalten i mjölken. Det fanns heller inga signifikanta skillnader i hull och vikt mellan behandlingarna (Tabell 16).

Däremot fanns några samspelseffekter mellan behandling och ålder på korna under första året. Kor med laktationsnummer 2-3 i tidig laktation i UV-gruppen hade lägre avkastning i kg ECM (38,0 respektive 41,7; $P<0,05$) samt mindre mängd fett (1,47 respektive 1,67 kg; $P<0,05$) och protein i mjölken (1,31 respektive 1,40 kg; $P<0,05$) än kor i MV-gruppen. Däremot hade de äldre korna (laktation 4 och äldre) i tidig laktation i UV-gruppen större mängd protein i mjölken (1,35 respektive 1,24 kg; $P<0,05$) än korna i MV-gruppen.

I mittlaktation hade kor i andra och tredje laktation i UV-gruppen tendenser till mindre mängd protein (1,21 respektive 1,29 kg; $P<0,10$) men högre ureahalt i mjölken (3,97 respektive 3,30 mM, $P<0,10$) än kor i MV-gruppen under år 1. För äldre kor (laktation 4 och äldre) i mittlaktation hade UV-gruppen högre avkastning i kg ECM (37,3 respektive 32,5; $P<0,05$) samt tendenser till större mängd protein (1,24 respektive 1,13 kg; $P<0,10$) men lägre ureahalt i mjölken (3,21 respektive 3,97 mM; $P<0,10$) än MV-gruppen.

De äldre korna (laktation 4 och äldre) i UV-gruppen hade lägre hullpoäng i mitt (1,84 respektive 2,88; $P<0,05$) och sen laktation (2,42 respektive 3,29; $P<0,05$) jämfört med korna i MV-gruppen under år 1.

År 2 hade förstakalvarna i sen laktation i UV-gruppen mindre mängd fett (0,93 respektive 1,16 kg; $P<0,05$) än korna i MV-gruppen.

De kor som inte fick någon tillsats av syntetiska vitaminer hade något högre antal celler i mjölken än de som fick tillsats av syntetiska vitaminer. Dock fanns ingen signifikant skillnad mellan grupperna (Tabell 16a och b).

Det fanns inga lukt- och smakfel i mjölken i de två behandlingsgrupperna (Danielsson et al., 2006; Danielsson et al., 2007)

Tabell 16a. Medelvärden av mjölkavkastning i kg och i kg, ECM, fett- och proteinhalt, fett- och proteinmängd, celltal och ureahalt i mjölken för de båda grupperna vid tre olika laktationsstadier: 1-3, 4-6 samt senare än 6 månader efter kalvning, första laktationen 2003/2004 (år 1). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer (n=25)

ÅR 1	1-3 månader			4-6 månader			>6 månader		
	UV	MV	P	UV	MV	P	UV	MV	P
Mjölk (kg)	39,1	38,5	0,556	37,6	36,2	0,306	28,3	28,0	0,838
ECM (kg)	36,9	36,4	0,655	34,7	33,4	0,287	28,1	27,8	0,825
Fetthalt (%)	3,73	3,75	0,857	3,55	3,51	0,704	4,02	3,91	0,452
Mängd fett (kg)	1,44	1,43	0,885	1,34	1,26	0,242	1,10	1,08	0,675
Proteinhalt (%)	3,17	3,23	0,194	3,11	3,21	0,100	3,50	3,54	0,577
Mängd protein (kg)	1,23	1,23	0,835	1,17	1,16	0,727	0,97	0,98	0,793
Celltal i mjölk (x1000)	134	110	0,669	151	154	0,970	280	232	0,736
Urea i mjölk (mmol/l)	3,86	4,04	0,331	3,66	3,75	0,714	3,74	3,80	0,780
Hullpoäng ¹	2,75	2,93	0,469	2,96	3,13	0,447	3,10	3,33	0,255
Vikt (kg)	590	576	0,400	602	596	0,771	634	620	0,258

¹Enlig en skala från 1 till 5 (Edmonson et al., 1989).

Tabell 16b. Medelvärden av mjölkavkastning, ECM, fett- och proteinhalt, fett- och proteinmängd, celltal och ureahalt i mjölken för de båda grupperna vid tre olika laktationsstadier: 1-3, 4-6 samt senare än 6 månader efter kalvning, andra laktationen 2004/2005 (år 2). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer (n=25)

ÅR 2	1-3 månader			4-6 månader			>6 månader		
	UV	MV	P	UV	MV	P	UV	MV	P
Mjölk (kg)	39,9	39,4	0,799	37,5	37,4	0,925	29,7	30,2	0,744
ECM (kg)	36,8	36,7	0,960	35,1	34,2	0,714	28,2	29,1	0,455
Fetthalt (%)	3,54	3,59	0,664	3,64	3,49	0,731	3,55	3,71	0,375
Mängd fett (kg)	1,40	1,42	0,869	1,36	1,29	0,679	1,05	1,12	0,182
Proteinhalt (%)	3,20	3,20	0,982	3,18	3,17	0,881	3,51	3,43	0,267
Mängd protein (kg)	1,26	1,25	0,867	1,19	1,18	0,894	1,03	1,03	0,968
Celltal i mjölk (x1000)	296	274	0,901	313	186	0,422	322	303	0,889
Urea i mjölk (mmol/l)	3,58	3,61	0,889	3,79	3,92	0,586	3,66	3,58	0,684
Hullpoäng ¹	2,97	2,74	0,487	2,69	2,79	0,590	3,09	3,19	0,483
Vikt (kg)	602	581	0,365	594	604	0,648	646	640	0,773

¹Enlig en skala från 1 till 5 (Edmonson et al., 1989).

Vitaminstatus i blodplasma

Det fanns ingen signifikant skillnad mellan de båda gruppernas koncentrationer av α -tokoferol, β -karotin eller retinol i blodplasman vid någon av tidpunkterna före, under eller efter kalvning (Tabell 17). I mittlaktation båda åren och i sen laktation år 1 fanns heller inga skillnader mellan behandlingarna. Däremot var koncentrationen av β -karotin högre medan koncentrationen av retinol var lägre i UV-gruppen jämfört med MV-gruppen i sen laktation år 2 (Tabell 18). Det fanns även en tendens till högre koncentration av α -tokoferol i sen laktation hos UV-gruppen än hos MV-gruppen (Tabell 18).

Koncentrationerna av α -tokoferol och β -karotin i blodplasma sjönk från 3 veckor innan kalvning till kalvning under båda åren medan retinolkoncentrationen endast sjönk under första året mellan 3 veckor innan och vid kalvning (Tabell 17).

Koncentrationen av α -tokoferol ökade sedan fram till 3-4 veckor efter kalvning till en nivå jämförbar med den innan kalvning. Däremot dröjde det längre innan halten av β -karotin kom upp i samma nivå som före kalvning (Tabell 17 och 18).

Vitaminstatus i mjölk

Den enda signifikanta skillnad mellan korna i de två grupperna som utfodrats med eller utan syntetiska vitaminer var för proven tagna på råmjölken direkt efter kalvning år 1 (Tabell 19). I råmjölken var koncentrationen av α -tokoferol lägre för korna i UV-gruppen än för korna som fick tillskott av syntetiskt vitamin ($P=0,005$). I genomsnitt över provtagningstidpunkterna (direkt e. kalvning, 4 dagar e. kalvning och 3-4 v. e. kalvning) tenderade koncentrationen av α -tokoferol att vara lägre hos korna i UV-gruppen än hos korna i MV-gruppen (1,58 respektive 2,11 mg/l; $P=0,061$).

Under första året fanns inga skillnader mellan behandlingarna i mitt- eller sen laktation. Under andra året var koncentrationen av retinol lägre i mittlaktation och tenderade att vara lägre i sen laktation i UV-gruppen jämfört med MV-gruppen (Tabell 20).

Båda åren sjönk halterna av α -tokoferol, β -karotin och retinol i mjölk från råmjölken till dag 4 efter kalvning till en nivå som var bibehållen 3 veckor efter kalvning, utom för β -karotin år 1, där nivån minskade ytterligare 3 veckor efter kalvning (Tabell 19).

Tabell 17. Innehåll av vitaminer i blodplasma (mg/l) 3 veckor före (v. f.) kalvning, vid kalvning och 3-4 veckor efter (v. e.) kalvning för behandlingarna (Beh.) utan vitamin (UV) och med vitamin (MV) för år 1 (2003/2004) och år 2 (2004/2005), (n=25 för Beh. x Tid och n=50 för Tid)

Blodparameter	Tidpunkt för provtagning							Signifikans						
	3 v. f. kalvning		Vid kalvning ¹		3-4 v. e. kalvning		SEM	Beh. x Tid	Beh.	Tid				
	UV	MV	UV	MV	UV	MV					P-värde	P-värde	P-värde	
År 1														
α-tokoferol	2,98	3,08	1,55	1,78	3,35	3,25	0,21	3,03 ^a	1,67 ^b	3,30 ^a	0,15	NS	NS	<0,0001
β-karotin	4,08	4,62	2,35	2,99	2,89	2,76	0,31	4,35 ^a	2,67 ^b	2,82 ^b	0,21	NS	NS	<0,0001
Retinol	0,27	0,27	0,22	0,21	0,35	0,33	0,02	0,27 ^b	0,21 ^c	0,34 ^a	0,01	NS	NS	<0,0001
År 2														
α-tokoferol	3,21	3,41	2,03	1,77	4,12	3,47	0,25	3,31 ^a	1,90 ^b	3,80 ^a	0,18	NS	NS	<0,0001
β-karotin	4,43	5,14	3,71	3,45	3,79	3,36	0,48	4,79 ^a	3,58 ^b	3,57 ^b	0,34	NS	NS	0,019
Retinol	0,30	0,30	0,30	0,24	0,32	0,32	0,04	0,30	0,27	0,32	0,03	NS	NS	NS

¹Inom 24 timmar efter kalvning.

^{a, b, c}Medelvärden med olika bokstäver mellan provtagningstidpunkter i genomsnitt över behandlingar skiljer sig signifikant ($P < 0,05$).

SEM standardavvikelse; NS inte signifikant

Tabell 18. Innehåll av vitaminer i blodplasma (mg/l) i mittlaktation (Laktmån. 3-5) och sen laktation (Laktmån. 7-9) för behandlingarna utan vitamin (UV) och med vitamin (MV) för år 1 (2003/2004) och år 2 (2004/2005), (n=25)

Blodparameter	Laktmån. 3-5			Signifikans P-värde	Laktmån. 7-9			Signifikans P-värde
	UV	MV	SEM		UV	MV	SEM	
År 1								
α-tokoferol	8,87	8,69	0,54	NS	7,78	7,60	0,46	NS
β-karotin	9,80	8,95	0,69	NS	9,39	9,27	0,78	NS
Retinol	0,43	0,42	0,02	NS	0,39	0,42	0,01	NS
År 2								
α-tokoferol	8,01	7,95	0,35	NS	7,22 [†]	5,87	0,52	0,084
β-karotin	12,21	11,11	0,86	NS	11,57 [*]	8,89	0,86	0,044
Retinol	0,37	0,74	0,22	NS	0,32	0,38 [*]	0,02	0,045

[†], ^{*}Signifikanta skillnader mellan de två behandlingarna inom samma rad och laktationsstadium ([†] $P < 0,10$, ^{*} $P < 0,05$).

SEM standardavvikelse; NS inte signifikant

Tabell 19. Innehåll av vitaminer i mjölk (mg/l) direkt efter (e.) kalvning (råmjölk), 4 dagar efter (d. e.) kalvning och 3-4 veckor efter (v. e.) kalvning för behandlingarna (Beh.) utan vitamin (UV) och med vitamin (MV) för år 1 (2003/2004) och år 2 (2004/2005), (n=25 för Beh. x Tid och n=50 för Tid)

Mjöltparameter	Tidpunkt för provtagning							Tidpunkt för provtagning			Signifikans			
	Direkt e. kalvning		4 d. e. kalvning		3-4 v. e. kalvning		SEM	Direkt e. kalvning	4 d. e. kalvning	3-4 v. e. kalvning	Beh. x Tid	Beh.	Tid	
	UV	MV	UV	MV	UV	MV		SEM	P-värde	P-värde	P-värde			
År 1														
α-tokoferol	2,95	4,32**	1,13	1,30	0,65	0,70	0,34	3,64 ^a	1,21 ^b	0,67 ^b	0,24	0,106	0,061	<0,0001
β-karotin	1,23	1,55	0,37	0,42	0,13	0,12	0,11	1,39 ^a	0,40 ^b	0,12 ^c	0,08	NS	NS	<0,0001
Retinol	2,32	2,63	0,48	0,70	0,26	0,24	0,20	2,47 ^a	0,59 ^b	0,25 ^b	0,15	NS	NS	<0,0001
År 2														
α-tokoferol	5,66	4,87	1,02	1,16	0,77	0,44	0,58	5,27 ^a	1,09 ^b	0,60 ^b	0,40	NS	NS	<0,0001
β-karotin	2,41	2,19	0,32	0,45	0,21	0,08	0,24	2,30 ^a	0,39 ^b	0,15 ^b	0,17	NS	NS	<0,0001
Retinol	3,63	2,86	0,61	0,75	0,35	0,27	0,38	3,24 ^a	0,68 ^b	0,31 ^b	0,27	NS	NS	<0,0001

Signifikanta skillnader mellan de två behandlingarna inom samma rad och laktationsstadium ($P < 0,01$).

^{a, b, c} Medelvärden med olika bokstäver mellan provtagningstidpunkter i genomsnitt över behandlingar skiljer sig signifikant ($P < 0,05$).

SEM standardavvikelse; NS inte signifikant

Tabell 20. Innehåll av vitaminer i mjölk (mg/l) i mittlaktation (Laktmån. 3-5) och sen laktation (Laktmån. 7-9) för behandlingarna utan vitamin (UV) och med vitamin (MV) för år 1 (2003/2004) och år 2 (2004/2005), (n=25)

Mjöltparameter	Laktmån. 3-5			Signifikans P-värde	Laktmån. 7-9			Signifikans P-värde
	UV	MV	SEM		UV	MV	SEM	
År 1								
α-tokoferol	0,47	0,46	0,04	NS	0,73	0,69	0,05	NS
β-karotin	0,13	0,12	0,01	NS	0,18	0,16	0,02	NS
Retinol	0,21	0,22	0,01	NS	0,32	0,34	0,02	NS
År 2								
α-tokoferol	0,69	0,73	0,05	NS	0,61	0,68	0,06	NS
β-karotin	0,20	0,23	0,02	NS	0,28	0,18	0,10	NS
Retinol	0,35	0,46**	0,03	0,011	0,40	0,46†	0,02	0,091

†, **Signifikanta skillnader mellan de två behandlingarna inom samma rad och laktationsstadium († $P < 0,10$, ** $P < 0,01$).

SEM standardavvikelse; NS inte signifikant

Hälsa och fruktsamhet

I UV-gruppen minskade antalet friska kor från första till andra försöksåret, samtidigt som antalet mastiter ökade (Tabell 21). Om enbart kor som varit med i behandlingsgrupperna båda åren undersöktes ökade även antalet pareser (Tabell 22). Det fanns dock en tendens till en större andel friska kor i UV-gruppen än i MV-gruppen för alla kor år 1 (Tabell 21). Andra året fanns däremot en tendens till färre friska kor i UV-gruppen samt signifikant fler mastiter hos korna som varit med två år, jämfört med MV-gruppen (Tabell 22).

Tabell 21. Antal (%) djur med olika hälsotillstånd i grupp utan (UV) och med (MV) vitamintillskott. $n=25$

	UV		P	MV		P	P	
	År 1	År 2		År 1	År 2		UTAN/MED	UTAN/MED
Friska	17 (68)	8 (32)	0.011	11 (44)	10 (40)	NS	NS (0.077)	NS
Pares	2 (8)	4 (16)	NS	3 (12)	6 (24)	NS	NS	NS
Mastit	3 (12)	13 (52)	0.003	7 (28)	11 (44)	NS	NS	NS
Övrigt	4 (16)	4 (16)	NS	6 (24)	3 (12)	NS	NS	NS

NS inte signifikant

Tabell 22. Antal (%) djur med olika hälsotillstånd i grupp utan (UV) och med (MV) vitamintillskott. Endast djur som fanns med båda åren är inkluderade, $n=15$ (UV), $n=14$ (MV)

	UV		P	MV		P	P	
	År 1	År 2		År 1	År 2		UTAN/MED	UTAN/MED
Friska	10 (67)	2 (13)	0.004	7 (50)	6 (43)	NS	NS	(0.086)
Pares	0 (0)	4 (27)	0.050	2 (14)	5 (36)	NS	NS	NS
Mastit	2 (13)	10 (67)	0.004	2 (14)	4 (29)	NS	NS	0.046
Övrigt	3 (20)	2 (13)	NS	5 (36)	3 (21)	NS	NS	NS

NS inte signifikant

Antal inseminationer per dräktighet, kalvningsintervall samt tomperiodens längd (kalvning till 1:a insemination) var något fler/längre i UV-gruppen än i MV-gruppen, utom för antalet inseminationer år 1 samt kalvningsintervallet för tjurbetäckta kor år 1 (Tabell 23).

Tabell 23. Antal inseminationer per dräktighet, kalvningsintervallens längd samt tomperiodens längd (kalvning till 1:a insemination) i medeltal för år 1 (2003/2004) och år 2 (2004/2005). Korna utfodrades utan (UV) eller med (MV) tillskott av syntetiska vitaminer

	Antal kor		Antal ins.		Kalvn.int. (mån)		Tomper. längd, (dag)	
	UV	MV	UV	MV	UV	MV	UV	MV
<i>År 1</i>								
Alla kor	18	19	1,3±0,6	1,8±1,0	12,7±1,9	11,2±1,3	80±29	66±27
Seminerade kor	14	16	1,3±0,6	1,8±1,0	12,5±1,9	10,9±1,0	80±29	56±27
Tjurbetäckta kor	4	3			13,3±1,8	16,0±2,0		
<i>År 2</i>								
Alla kor	15	20	1,9±1,0	1,8±1,0	14,4±2,8	12,7±1,4	114±41	103±31
Seminerade kor	10	16	1,9±1,0	1,8±1,0	13,5±2,2	12,8±1,5	114±41	103±31
Tjurbetäckta kor	5	4			15,4±3,3	12,4±1,0		

Diskussion

Enligt vår kännedom finns det inga tidigare studier gjorda i Norden för att undersöka effekter av att korna inte får några tillsatser av syntetiskt vitamin. I denna studie tillgodogjorde sig försöksgruppen (UV) endast de vitaminer som fanns tillgängligt i fodret.

Enligt resultaten i denna studie fanns inga stora skillnader mellan de kor som fick syntetiskt vitamintillskott (MV) och de som inte fick vitamintillskott (UV). Resultaten baserades på mjölkdata från provmjölkningen samt på vitaminanalyser från blodplasma och mjölk under fem provtagningar per ko och laktation. Däremot ökade antalet sjuka kor och antalet kor med mastit och pares från första till andra året. Kor som inte fick tillskott av syntetiska vitaminer under två laktationer hade en betydligt sämre hälsa andra året än kor som fick tillskott av syntetiskt vitamin. Detta visar på långtidseffekter av att inte ge syntetiska vitaminer.

Rekommenderade mängder syntetiskt vitamintillskott varierar i olika länder. Normen är beroende på vad djuren utfodras med, alltså fodrets naturliga vitamininnehåll, hur lång betesperioden är och var i laktationen kon befinner sig. Eftersom variationen av vitamininnehållet i olika fodermedel är stor och eftersom behovet hos kor skiljer sig är det svårt att fastställa normer. Normerna är således endast en vägledning för att behovet hos djuren ska uppnås (Jensen, 2003b).

Foder

Under hela försöksåret samlades foderprover in från Tingvall för att analyseras på α -tokoferol och β -karotin. Innehållet av vitaminer i fodret på Tingvall visade relativt normala nivåer jämfört med tabellvärden (Carlsson, 2000; Spörndly; 2003). Ensilageproven varierade något från månad till månad. Enligt tidigare studier varierar även vitamininnehållet i silon (Nadeau, 2003). Därmed kan även provtagningsstället i silon ha haft betydelse för variationerna mellan månaderna.

Sinkornas rundbalsensilage och proverna från betet innehöll mycket låga nivåer av vitaminer. Det var mot förväntan att betesproverna innehöll låga nivåer av vitaminer. Anmärkningsvärt är också att betet innehöll något lägre nivåer än ensilaget i detta försök (utom för β -karotin år 2). Detta motsäger behovsnormen enligt svenska rekommendationer där det anges att betande djur har 2/3 lägre behov av tillsatt vitamin då vitamininnehållet i betet är högt (Spörndly, 2003).

Enligt beräknat intag av E-vitamin i de olika foderstaterna (hög- respektive medelavkastande mjölkkor och sinkor) fick även sinkorna som utfodrades med syntetiskt vitamin i sig lite för lite vitamin E enligt NRC:s, Sveriges, och Danmarks normer. Dock var behovet beräknat enligt den förra utgåvan av svenska fodermedelstabellen (Spörndly, 1999), då behovsnormen för sinkor var betydligt lägre än i dag, och givan ändrades inte under försökets gång. För att utfodringen skulle efterlikna situationen i praktiskt lantbruk var givan av mineral/vitaminfoder till sinkor och kor även inom ramen för Lactamins rekommendation (Lactamins produktblad, 2004).

För att kunna utfodra ekologiska mjölkkor med 100 % ekologiskt foder används ofta oljeväxter i foderstaten. Korna i detta försök fick upp till 3 kg rapskaka, vilket är ett vanligt fodermedel inom ekologisk produktion. Rapskakan innehåller en hög andel omättat fett samtidigt som innehållet av antioxidanten α -tokoferol är högt. Andelen fleromättade fettsyror i foderstaten minskar dock upptaget av vitamin E (Mc Donald et al., 1988; Knudsen et al., 2001).

Plasma

I försöket fann vi inga signifikanta skillnader mellan grupperna med avseende på nivåer av α -tokoferol eller β -karotin i plasma vid någon av tidpunkterna förutom under år 2 i sen laktation, då UV-gruppen hade högre koncentration av α -tokoferol och β -karotin men lägre halt av retinol än MV-gruppen. Eftersom E-vitamin är viktigt för ett välfungerande immunförsvar och därmed medverkar till att kon lättare kan klara av en kalvning är behovet större runt kalvningsperioden (Knudsen et al., 2001). Tidigare studier har visat sänkta nivåer av A- och E-vitamin i blodplasman kring kalvning (Batra et al., 1992; Weiss et al., 1997; Meglia et al., 2004). Enligt studierna är det inte ovanligt att nivåerna sjunker till under 3 $\mu\text{g/ml}$ plasma vilket också var resultatet i detta försök. I det här försöket låg nivån för alla kor i medeltal mellan 1,7-1,9 $\mu\text{g/ml}$ α -tokoferol i blodplasman vid kalvning, vilket är lågt. Enligt Knudsen et al. (2001) bör värdet ligga över 3 $\mu\text{g/ml}$ för att djuren ska ha en bra immunfunktion. Nivån av β -karotin vid kalvning låg mellan 2,7-3,6 $\mu\text{g/ml}$ i försöket, vilket är relativt bra. Enligt Jukola et al. (1996) bör α -tokoferol nivåerna ligga över 4 $\mu\text{g/ml}$ plasma respektive över 3 μg β -karotin per ml plasma då detta har setts förbättra juverhälsan. Även nivåerna av retinol låg inom normala värden i båda grupperna.

För att öka andelen α -tokoferol och β -karotin i blodplasman vid tiden runt kalvning bör sinkor och högdräktiga kvigor få extra tillskott. Framförallt bör de få tillskott om de är högdräktiga under vinterhalvåret. Detta eftersom lagrat E-vitamin förbrukas helt inom 2-4 veckor (Weiss, 1999; Mc Dowell, 2000; Jensen, 2003c). Eventuella förråd av vitamin E från betet är då helt tömda i december om korna stått på stall sedan september/oktober. Tillskott bör då tillsättas foderstaten. Detta borde teoretiskt sett även öka andelen vitaminer i råmjölken, då vitamininnehållet i råmjölken beror av vitaminnivån i plasman. Eftersom plasmanivåerna är låga blir även nivåerna i mjölken

låga då innehållet av vitamin E i mjölken är relaterat till det som finns i blodet (Knudsen et al., 2001).

Mjolk

I denna studie fann vi ett signifikant lägre innehåll av α -tokoferol i råmjölken i UV-gruppen jämfört med MV-gruppen. Normala nivåer av vitamin E i helmjolk är 0,4-0,6 mg α -tokoferol/l mjolk och för råmjölken ligger nivåerna mellan 3 och 6 mg α -tokoferol/l mjolk. I vår studie låg nivån av α -tokoferol i mjölken på normala värden i båda grupperna, utom i råmjölken under första året. Ett lågt innehåll av vitaminer i mjölken kan ha betydelse för kalven eftersom den föds så gott som utan reserver av vitamin E i levern. Den är helt beroende av att få vitaminer via råmjölken. Om kalvarna får brist på E-vitamin kan de få ett försvagat immunförsvar och risken för sjukdomar ökar. Att studera kalvarna ingick inte i studien men det bör dock undersökas i framtiden.

Nivån av retinol var lägre i UV-gruppen jämfört med MV-gruppen hos kor i mitt- och sen laktation. Dock låg värdena i båda grupperna inom normala nivåer (0,3-0,9 $\mu\text{g/ml}$; Jensen et al., 1999).

Produktionsdata och hälsa

Enligt resultaten från mjölkanalyserna fanns inga signifikanta skillnader mellan grupperna vad gäller mjölkavkastning, protein- och fetthalt, celltal eller urea i mjölken. UV-gruppen hade ett högre, dock ej signifikant antal celler i mjölken. Ett högt antal celler i mjölken kan vara ett tecken på inflammation i juvret. Enligt Politis med flera (2003) visade tillskott av vitamin E ge 25 % lägre cellhalt i mjölken.

De äldre korna (laktation 4 och äldre) i UV-gruppen hade en lägre hullpoäng i mitt- och sen laktation under första året än korna i MV-gruppen, annars fanns inga skillnader i hull eller vikt mellan grupperna.

Trots att korna i de båda behandlingsgrupperna inte visade några tydliga skillnader i vitaminstatus hade korna i UV-gruppen en betydligt sämre hälsa andra året än korna som fått tillskott av syntetiska vitaminer.

Det bästa alternativet för att i framtiden undvika att ekologiska mjölkkor inte ska få problem med högt celltal, kvarbliven efterbörd, svagt immunförsvar eller oxidationsproblem i mjölken bör vara att korna får tillskott av vitamin A och E. Det bör framförallt tillsättas innan kalvning.

Mer forskning behövs inom detta ämne. Fodermedel som naturligt innehåller en hög andel E-vitamin är den mest intressanta källan att studera, då den ekologiska produktionen bygger på att tillsatser inte ska användas. Djuren får då i sig vitaminer på naturlig väg genom fodret. Det behövs även försök där kalvar och ungdjur inkluderas i studien. Nya försök inom områdena genomförs för närvarande, en studie om vitamininnehållet i vall, en studie med kor som får ett naturligt tillskott av vitamin E och en studie om köttkvalitet hos mjölkkrasstutar utfodrade med eller utan tillskott av syntetiska vitaminer.

Slutsatser

- Tillskott av syntetiska vitaminer (A, D och E) till mjölkkor är nödvändigt för att bibehålla en god djurhälsa.
- Fastän inga stora skillnader i blodets och mjölkens innehåll av α -tokoferol och β -karotin samt i produktion mellan kor som fick och kor som inte fick tillskott av syntetiska vitaminer i denna studie kan produktionsbortfall potentiellt uppstå på längre sikt.

Tillkännagivanden

Studien finansierades av Jordbruksverket, vilket tacksamt tillkännages. Hushållningssällskapet Väst tackas för gott samarbete. För genomförandet av studiens praktiska del vill författarna tacka driftsledare Erik Hedlund, Tingvall samt försökstekniker Lars Johansson, SLU Skara. För hjälp med sammanställning av data tackas försökstekniker Karin Wallin och doktorand Hanna Danielsson. Agronom Sofia Sjöberg tackas för examensarbete i projektet, vilket delvis ingår i rapporten. Författarna vill även tacka Dr. Jan-Eric Englund, SLU Alnarp, för statistisk rådgivning.

Resultatförmedling

Studien har presenterats vid ett flertal tillfällen, bl.a. på rådgivarseminarium i Katrineholm i januari 2005 och på Högre Kurs i Ekologiskt Lantbruk (anordnas av CUL, Uppsala), vid Svensk Mjölks Djurhälso- och Utfodringskonferens i Jönköping 2005 samt på workshop om "Naturliga vitaminer" 2004 i Uppsala. Resultat från första året presenterades som poster (abstract) vid EAAP 2005 och vid konferensen för Ekologiskt lantbruk 2005, båda i Uppsala.

Publikationer

- Johansson, B. & Nadeau, E. 2005. Effect on milk production and vitamin status in cows fed without synthetic vitamins. Proceedings of the 56th annual meeting of the European Association for Animal Production. Uppsala, Sweden, 5-8 June.
- Danielsson, H., Johansson, B., Nadeau, E., Persson Waller, K., & Jensen, S. K. 2005. Behöver mjölkkor tillskott av syntetiska vitaminer? Ekologiskt lantbruk, SLU, Ultuna 22-23 november. Centrum för uthålligt lantbruk, SLU. s 274.
- Johansson, B. & Nadeau, E. 2005. Protein och vitaminförsörjning hos mjölkkor i ekologisk produktion, är kallpressad rapskaka en bra lösning? Djurhälso- och Utfodringskonferensen, Svensk Mjolk, Jönköping 26/8-2005.

Litteraturförteckning

- Batra, T. R., Hidioglou, M. & Smith M. W. 1992. Effect of vitamin E on incidence of mastitis in dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 72:287-297.
- Bertics, S. J., Grummer, R. R., Cadorniga-Valino, C. & Stoddard, E. E. 1992. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.* 75: 1914-1922.
- Blomhoff, R. 1994. Transport and metabolism of vitamin A. *Scand. J. Nutr.* 38:13-22.
- Bondi, A. A. 1987. *Animal nutrition*. A Wiley -Interscience Publication. John Wiley & Sons. ISBN. 0-471-90375-2: 540
- Brigelius-Flohé, R., & Traber, M. G. 1999. Vitamin E: function and metabolism. *Federation of Am. Societies for Experimental Biology J.* 13:1145-1155.
- Carlsson, J. 2000. Vitaminer till nötkreatur i ekologisk produktion. *Jordbruksinformation* 6, Jordbruksverket, Jönköping. Stencil 10 sidor.
- Chew, B.P. 1987. Symposium: Immune function: relationship of nutrition and disease control. Vitamin and β -carotene on host defence. *J. Dairy Sci.* 70:2732-2743.

- Danielsson, H., Johansson, B. & Nadeau, E. 2006. Effekter på mjölkqualität vid förbud mot användning av syntetiska vitaminer i ekologisk mjölkproduktion. Slutrapport till Stiftelsen Lantbruksforskning.
- Danielsson, H., Johansson, B., Nadeau, E., Persson Waller, K. & Jensen, S.K. 2007. Fatty acids and flavours in milk from dairy cows fed no synthetic vitamins. *J. Anim. Feed Sci.*, vol 16 Suppl 1, 2007. I tryck.
- De Leenheer, A. P., Lambert, W. E. & Nelis, H. J. 1992. *Modern Chromatographic Analysis of Vitamins*, 2:nd edition. New York, United States of America.
- Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T. and Webster, G. A., 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72: 68-78.
- Eger, S., Drori, D., Kadoori, I., Miller, N & Schindler, H. 1985. Effects of Selenium and E -vitamin on Incidence of Retained placenta. *J. Dairy Sci.* 68, No. 8:2119-2122.
- Eriksson, S., Sanne, S. & Thomke, S. 1972. *Fodermedlen. Sammansättning, näringsvärde, användbarhet.* LTs förlag, Borås.
- Europeiska gemenskapernas officiella tidning, L222/1. 1 Rådets förordning (EG) nr. 1804/1999. 19 Juli, 1999.
- Frame, J. 1993. Herbage mass. In: Davis, A., Baker, R. D., Grant, S. A. and Laidlaw, A. S. (eds.) *Sward Measurement Handbook.* British Grassland Society, Reading. 39-67.
- Goff, J. P. & Stabel, J. R. 1990. Decreased plasma retinol, alpha-tocopherol, and zinc concentration during the periparturient period -effect of milkfever. *J. Dairy. Sci.* 73 (11): 3195-3199.
- Grummer, R. R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy-cow. *J. Anim. Sci.* 73 (9): 2820-2833, September 1995. Univ. Wisconsin, dept. dairy sci. Madison, WI 53706, USA.
- Harrison, J. H., Hancock, D. D & Conrad, H. R. 1984. E -vitamin and Selenium for Reproduction of Dairy Cow. *J. Dairy. Sci.* 67, No. 1:123-132.
- Herdt, T. H. & Stowe, H. D. 1991. Fat-soluble vitamin nutrition for dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Prac.* 7: 391-415.
- Hidiroglou, N., L. R., Papas, A. M., Antapli, M. & Wilkinsson, N. S. 1992. Bioavailability of vitamin E compounds in Lambs. *J. Anim. Sci.* 70: 2556-2561.
- Hogan, J. S., Weiss, W. P. & Smith, K. L. 1993. Role of Vitamin E and Selenium in Host Defence Against Mastitis. *J. Dairy Sci.* 76: 2795, 2797.
- Jensen, S. K. 2003a. Goldkøernes E-vitamin forsyning er vigtig. KvægInfo nr. 1266. Afd. For Husdyrernæring og fysiologi, Danmarks Jordbruksforskning. 2003-16-12.
- Jensen, S. K. 2003b. Makekoens vitaminbehov og -forsyning. Kapitel 9. In: Strudsholm, F. & K. Sejrsen (eds). *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 2 – Fodring og fysiologi*, pp. 179-188. DJF rapport Husdyrbrug nr 54 - december 2003. Danmarks JordbruksForskning.
- Jensen, S. K. 2003c. Absorption og omsætning af vitaminer. Kapitel 13. In: Strudsholm, F. & K. Sejrsen (eds). *Kvægets ernæring og fysiologi. Bind 2 – Fodring og fysiologi*, pp. 375-388. DJF rapport Husdyrbrug nr 54 - december 2003. Danmarks JordbruksForskning.
- Jensen, S.K., Johannsen, A.K.B. & Hermansen, J.E. 1999. Quantitative secretion and maximal secretion capacity of retinol, β -carotene and α -tocopherol into cows milk. *J. Dairy Res.* 66: 511-522.
- Johansson, B. & Nadeau, E. 2007. Performance of dairy cows fed an entirely organic diet containing cold-pressed rapeseed cake. *Acta Agric. Scand. I tryck.*
- Johansson, B. & Sundås, S. 2002. Mjölkproduktion med enbart grovfoder på Tingvalls försöksgrård. Fakta, jordbruk nr 18, SLU.
- Johnsson, P. & Pover, W. F. R. 1962. Intestinal Absorption of α -tocopherol. *Life Sci.* Vol. 4:115-117.
- Jukola, E. 1994. Selenium, Vitamin A, and β -carotene status of cattle in Finland, with special reference to epidemiological udder health and reproduction data. Department of basic veterinary medicine, Helsinki, Finland & Department of clinical nutrition, SLU Uppsala, Sweden.
- Jukola, E., Hakkarainen, J., Saloniemi, H. & Sankari, S. 1996. Blood Selenium, Vitamin E, Vitamin A, and β -Carotene Concentrations and Udder Health, Fertility Treatments, and Fertility. *J. Dairy Sci.* 79; 5,838-845.
- Knudsen, B. S., Hermansen, J. E., Jensen, S. K., Kristensen, T. & Nielsen M. O. 2001. E-vitamin til malkekøer. DJF rapport. Nr. 27. Husdyrbrug.
- KRAV-regler, 2004. Box 1940, 751 49 Uppsala.
- Lactamin AB, 2004. Produktblad, Effekt mineralfoder normal. Box 44, 610 20 Kimstad. McDonald, P., Edwards, R.A. & Greenhalgh, J.F.D. 1988. *Animal nutrition.* 4th ed. p.58-89.
- Mc Dowell, L.R. 2000. *Vitamins in Animal and Human Nutrition.* Iowa state University press, Iowa.
- Mc Dowell, 1992 *Minerals in animal and human nutrition,* Department of Animal Science University of Florida Gainesville, Florida.

- Meglia, G. E., Jensen, S. K., Lauridsen, C. & Persson Waller, K. 2004. Prediction of vitamin A, vitamin E, selenium and zinc status of periparturient dairy cows using blood sampling during the mid dry period. *Acta vet scand*, 45: 119-128.
- Mueller, F. J., Miller, J. K., Remsey, N., DeLost, R. C. & Madsen, F. C. 1989. Effects of E -vitamin and access iron on placental retention and subsequent milk yield in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 72: suppl 1:564.
- NRC (National Research Council). 2001. *Nutrients Requirements of Dairy Cattle*. 7th revised edition, National Academy Press, Washington.
- Nadeau, E. 2003. Viktiga faktorer som påverkar vitamininnehållet i vallensilage. pp.137-141. Konferensrapport Ekologiskt lantbruk "Vägar, val, visioner". 18-19/11. Ultuna. CUL, SLU, Sweden.
- Nadeau, E., Johansson, B., Jensen, S. K. och Olsson, G. 2003. Skördemetodens och lagringens betydelse för vitamininnehållet i ensilage och mjölk på ekologiska mjölkgårdar. Slutredovisning till Jordbruksverket av projekt med diarienummer 25-5152/00.
- Nadeau, E., Johansson, B., Jensen, S. K. and Olsson, G. 2004. Vitamin content of forages as influenced by harvest and ensiling techniques. Page 891-893 *in* Land Use Systems in Grassland Dominated Regions. A. Lüscher, B. Jeangros, W. Kessler, O. Huguenin, M. Lobsiger, N. Millar and D. Suter, (eds.). *Grassland Science in Europe*, Vol. 9. Proc. of the 20th General Meeting of the European Grassland Federation, Luzern, Switzerland, 21-24 June.
- Payne, J.M. 1989. *Metabolic and nutritional diseases of cattle*. Blackwell Scientific Publications.
- Politis, I., Hidiroglou, M., Batra, T. R., Gorewit, R. C., & Scherf, H. 1995. Effects of vitamin E on immune function of dairy cows. *Am. J. Vet. Res*, 56; No. 2. 179.
- Politis, I., Bizelis, I., Tsiaras, A. & Baldi, A. 2003. Effect of vitamin E supplementation on neutrophil function, milk composition and plasmin activity in dairy cows in commercial herd. *J. Dairy Res.* 71: 273-278.
- Pond, W.G., Church, D. C & Pond, K. R. 1995. *Basic animal nutrition and Feeding*. 4th edition. John Wiley & Sons Inc. ISBN. 0-471-30864-1: 615.
- SAS. 1999. *SAS Systems for Windows, Release 8e*. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Smith, K. L. 1986. Vitamin E -enhancement of immune response and effects on mastitis in dairy cows. Page 1 in Proc. Roche Symp., London, Engl. Hoffman LaRoche, Nutley, NJ.
- Spörndly, R. 1999. Fodertabeller för idisslare 1999. Inst. för husdjurens utfodring och vård. Rapport nr. 247, Uppsala.
- Spörndly, R. 2003. Fodertabeller för idisslare 2003. Inst. för husdjurens utfodring och vård. Rapport nr. 257, Uppsala.
- Strudsholm, F., Aaes, O., Madsen, J., Kristensen, V. F., Andersen, H. R., Hvelplund, T. & Ostergaard, S. 1999. Danske fodernormer til Kvæg. Rapport nr. 84, Landbrugets Rådgivningscenter, Landskontoret for Kvæg, 47 pp.
- St-Laurent, A.M., Hidiroglou, M., Snoddon, M. & Nicholson, J.W.G. 1990. Effect of α -tocopherol supplementation to dairy cows on milk and plasma α -tocopherol concentrations and on spontaneous oxidized flavour in milk. *Can. J. Anim Sci*, 70: 561-570.
- Weiss, W. P. 1998. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: A review. *J. Dairy Sci.* 81:2493-2501.
- Weiss, W. P. 1999. *Vitamin E Requirements for Protection of Dairy Cows Against Infections at Parturition*. Department of Animal Science, The Ohio State University. A.L. Moxon Honorary Lectures, Special Circular 167-99.
- Weiss, W. P., Hogan, J. S., Smith, K. L., 1994. Use of α -tocopherol concentrations in blood components to assess vitamin E status of dairy cows. *Agri-Practice* 15:5-8.
- Weiss, W. P., Hogan, J. S., Todhunter, D.A. & Smith, K. L. 1997. Effects of vitamin E supplementation in diets with low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 1728-1737.