

Projekt ITF-Milk



DIE REGIERUNG  
DES GROSSHERZOGTUMS LUXEMBURG  
Ministerium für Landwirtschaft, Weinbau  
und ländliche Entwicklung

# Dem Milchgeschmack auf der Spur

Vor gut drei Jahren wurde das ITF-Milk Projekt im Rahmen vom EIP Agri Programm gestartet. Das dreijährige Projekt beschäftigt sich mit den Themen Aroma und Geschmack von Kuhmilch und Milchprodukten. Das Ziel besteht darin, dieses oftmals als zu nebensächlich eingeschätzte Qualitätskriterium spektral in seiner chemischen Grundeinheit «freier Anteil der wichtigsten Fettsäuren» messbar zu machen und die Entwicklungen dann in der Praxis einzusetzen.



Romain Reding

**A**ufgrund der Ergebnisse vom Jahr 2020 (siehe Züchter 4/2020) wurde ab Anfang 2021 eine ganze Serie Testmessungen von labortechnisch künstlich vorbehandelter Milch durchgeführt. Das Ziel bestand darin, die in zufällig ausgewählten Proben natürlich vorkommenden, recht niedrigen Konzentrationen an freien Fettsäuren künstlich zu erhöhen und so die Detektionsgrenze vom Laboranalysegerät GC-MS/MS für die ganze Serie an Fettsäuren insbesondere aber für die kurzkettigen freien Fettsäuren bei jeder Referenzprobe sicher zu überschreiten.

Da es sich hierbei um Grundlagenforschung in einem bis dato kaum untersuchten Fachgebiet handelt, wurde am Anfang vom Jahr sehr viel über bestmögliche Varianten von labortechnischen Versuchsprotokollen diskutiert, die der Situation angepasst waren und als realistisch durchführbar bewertet wurden. Als sinnvoll erschien es zunächst, verschiedene Schüttel- und Belüftungsansätze kombiniert mit Varianten von sukzessivem Einfrieren, Auftauen und Erhitzen zu untersuchen. Beim Einfrieren waren auch Varianten der Schockgefrierung mit flüssigem Stickstoff auf minus 180°C dabei. Von Ende Januar 2021 bis September 2021 waren in insgesamt sechs Versuchsreihen 46 dieser speziell vorbereiteten Testproben im Chemielabor vom LIST in Belval analysiert worden.

Als Ergebnis konnte man bis zu dieser Projektphase festhalten, dass die Konzentrationen insgesamt im Durchschnitt höher waren, bis auf

einige als sehr interessant zu bezeichnende Outlier/Außenseiter aber immer noch als nicht ausreichend hoch bewertet wurden. Insbesondere die im Zusammenhang mit dem Milchgeschmack als besonderes interessant angesehenen, kurzkettigen freien Fettsäuren bereiteten immer noch Probleme.

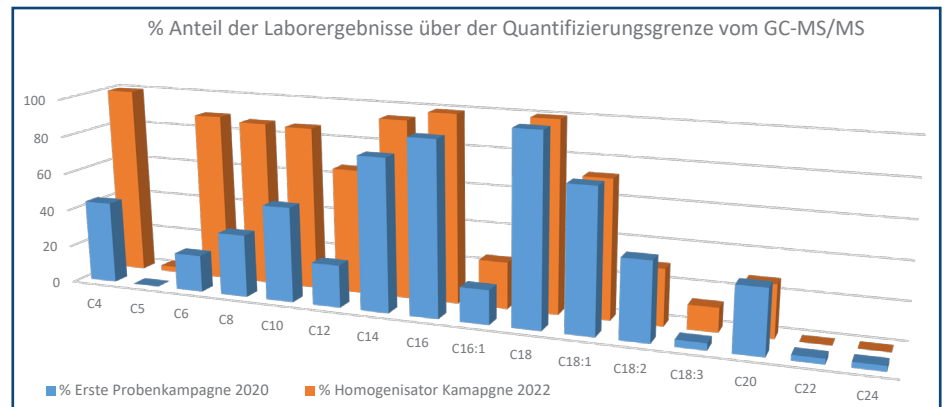
Diese Ergebnisse wurden dann statistisch auf Basis vom Korrelationskreis und den hiermit zusammenhängenden Clustering Verfahren der explorativen Faktorenanalyse sowie mit den auf dem ANOVA Ansatz basierenden Signifikanztests auf Besonderheiten untersucht. Dabei wurde erkannt, dass Milch von Kühen mit Ketose wohl besonders



ITF-Milk wurde im Sommer 2022 auf dem ICAR Kongress in Montréal vom Projekt Partner CRA-W Gembloux vorgestellt

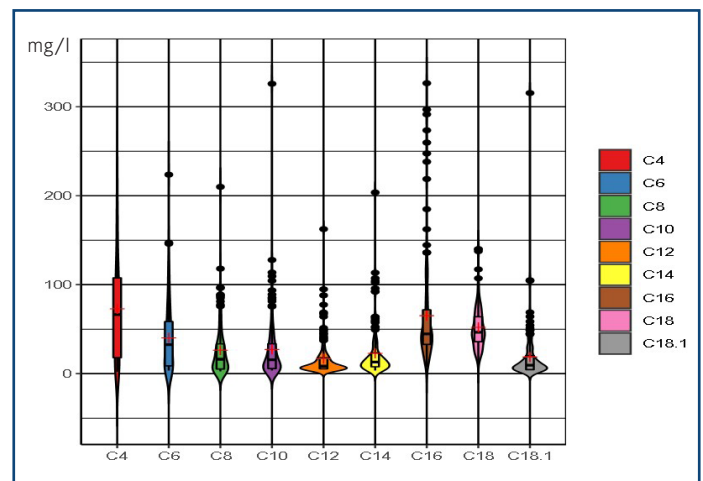
interessant erschien. Daraufhin hat man dann eine ausführliche Analyse vom natürlichen Vorkommen von potentiell Ketose gefährdeten Kühen auf Basis der routinemäßig bestimmten Milchleistungsparameter BHB, Aceton und Citrat für das Jahr 2020 durchgeführt. Ziel war es, großflächig und zeitnah auf den MLP basierten Ergebnissen solche Ketose Kühe systematisch ausfindig zu machen und dann eben gezielt von diesen Kühen Referenzproben zu analysieren. Dabei kam es auf eine möglichst zeitnahe Probenentnahme nach der Detektion bei der routinemäßigen Milchkontrolle an, denn bekanntlich dauert ein Ketose Status einer Milchkuh eben nicht sehr lange an.

**Abb. 1:** Vergleich der Laborergebnisse zwischen den sieben Kampagnen 2022 und der ersten Kampagne im Jahr 2020



Aufgrund von zeitlichen Aspekten vom Projektverlauf, aber auch um jegliche Verschwendung von den doch recht teuren Referenzproben möglichst zu verhindern, wurde in dieser Phase zusätzlich beschlossen, alle noch anstehenden und notwendigen Testanalysen nicht mehr mit der aufwendigen GC-MS/MS Analytik durch zu führen, sondern auf die im ASTA Milchlabor in Ettelbrück zur Verfügung stehende FOSS Analytik zurückzugreifen. Man erwartete sich dadurch deutlich schneller vorliegende und kostengünstigere Ergebnisse. Diese Technik analysiert nicht den freien Anteil von jeder Fettsäure im Einzelnen, sondern stets den Gesamtgehalt als Summe aller freien Fettsäuren. Dieser Wert erlaubt es jedoch durchaus, über die jeweilige Intensität der Konzentrationsanstiege urteilen zu können, die durch die verschiedenen Spezialbehandlungen im Endeffekt erreicht wurden. Allerdings werden diese Ergebnisse in einer mmol/l basierten Einheit übermittelt, wohingegen im Rahmen von ITF-Milk Projekt bis dato in der Einheit mg/l gearbeitet wurde. Somit wurde in diesem Zusammenhang eine recht umfangreiche, statistisch-stöchiometrische Auswertung notwendig, die die Entwicklung eines Umrechnungsverfahrens zwischen den zwei Einheiten mmol/l für die Summe aller freien Fettsäuren und der Konzentration jeder freien Fettsäure Einzel aus dem ITF-Milk Pool angegeben in der Einheit mg/l ermöglichte. Der entwickelte Ansatz erlaubte schließlich die Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Bis zum Jahresende 2021 wurden so in zwei Phasen insgesamt 132 weitere Varianten analysiert und bewertet.

**Abb. 2:** Konzentration (mg/l) vom freien Anteil aus den sieben Kampagnen von 2022. Alle Proben wurden im Homogenisator aufbereitet



Im Anschluss an diese Untersuchungen vom Jahr 2021 wurden im Jahr 2022 über das ganze Jahr verteilt sieben weitere Spezialkampagnen durchgeführt, bei denen die Milch mit einem Homogenisator im Milchlabor vom CRA-W in Gembloux (B) aufbereitet wurde und anschließend dann die Konzentration im Chemielabor vom LIST in Belval (L) bestimmt wurde. Der Homogenisator vom CRA-W ist ebenfalls direkt mit einem MIR Spektrometer ausgestattet, was im Zusammenhang mit der statistischen Spektralmodellierung den Datenfluss etwas vereinfachte. Diese 146 unter verschiedenen Aufbereitungsverfahren vorbereitet Einzelkuh Milchproben von 2022 stammten von Betrieben aus der Gegend von Gembloux (B), Stuttgart in Baden-Württemberg (D) und dem Kanton Redange in Luxemburg. Wie in Abbildung 1 nun ersichtlich ist, konnte der Anteil der Ergebnisse über der Quantifizierungsgrenze vom Laborgerät GC-MS/MS auf ein zufriedenstellendes Niveau gebracht werden und

die Zusammenstellung größerer Datensätze für die Spektralmodellierung vom freien Anteil für die ganze Liste der wichtigsten Fettsäuren dürfte nun kein Problem mehr darstellen. Dieser Punkt stellte eine der größten Herausforderungen in diesem Projekt dar. Abbildung 2 zeigt die Konzentrationen der Referenzanalysen der sieben Kampagnen vom Jahr 2022 im Violin Plot, der sich hervorragend zur Visualisierung von nicht normalverteilten Stichproben mit geringem Umfang eignet. Insgesamt wurden bis zur aktuellen Projektphase 462 Referenzproben analysiert.

Was nun die Ergebnisse der Modellentwicklungen angeht, so stehen derzeit für ca. 50 % der relevanten Fettsäuren Modelle zur Verfügung, die überproportional anormal hohe Konzentrationen sicher erkennen können. Die angewendete statistische Methodik basiert auf dem PLS (partial least square) sowie dem SVM (support vector machine) Verfahren. Insbesondere für die kurzkettigen Fettsäuren (C4; C6; C8; C10), die wegen der zu kleinen Datensätze zu Beginn vom Projekt mehr Probleme bereiteten, erwartet man nun bis zum anstehenden Projektende ebenfalls eine ausreichende Präzision (gute RMSE [root mean square deviation] und RPD [ratio of performance deviation] Werte) und somit dürfte einer large scale Anwendung der Entwicklungen nichts mehr im Weg stehen.