



MINISTERIUM
FÜR EIN
LEBENSWEERTES
ÖSTERREICH

HBLFA RAUMBERG-GUMPENSTEIN
LANDWIRTSCHAFT

Abschlussbericht MIR-RATION (WT)

Projekt Nr./Wissenschaftliche Tätigkeit Nr. 101125

Einfluss der Rationszusammensetzung auf das Mid-Infrarot Spektrum der Kuhmilch

Impact of feed ration composition on the mid- infrared spectra of dairy cow milk

Projektleitung:

Priv. Doz. Dr. Andreas Steinwider, HBLFA Raumberg-Gumpenstein

Projektmitarbeiter:

Univ. Doz. Dr. Leonhard Gruber, DI Georg Terler,
DI Christian Fasching, Rupert Pfister,
alle HBLFA Raumberg-Gumpenstein

Projektpartner:

Michael Klaffenböck (Master Student), Univ. Prof. Dr. Johann Sölkner,
Ass. Prof. Dr. Gabor Mészáros,
alle BOKU Wien

Projektlaufzeit:

2015 – 2016

raumberg-gumpenstein.at



INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung 4

Summary 4

Einleitung 4

Tiere, Material und Methoden 5

Ergebnisse 7

Diskussion und Schlussfolgerungen 7

Literatur 8

ZUSAMMENFASSUNG

Die Zusammensetzung von Kuhmilch wird wesentlich von der Fütterung und Rationsgestaltung beeinflusst. Nachdem die Milchinhaltsstoffe routinemäßig mithilfe von MIR-Spektrometrie (Spektrometrie mit mittellangen Infrarotwellen) erfasst werden, könnten die vorhandenen MIR-Spektren auch zur Schätzung der Futterration der Tiere verwendet werden. In der vorliegenden Studie wurde geprüft ob und wie gut die Futtertrockenmasseanteile an der Tagesration, sowie die absoluten gefressenen Rationskomponentenmengen für Heu, Grassilage, Weidefutter, Maissilage und Krafftutter mit Hilfe der tierindividuellen Milch-Infrarotspektren geschätzt werden können. Dazu wurden insgesamt 10200 individuelle Milchproben und Futteraufnahmedatensätze von 90 Milchkühen der Versuchsbetriebe an der HBLFA Raumberg-Gumpenstein in Österreich herangezogen. Der Datensatz wurde bei jedem Untersuchungsdurchgang zufällig in einen Kalibrierungs- und Validierungsdatensatz im Verhältnis 40:60 geteilt. Darauf aufbauend wurden mithilfe der Partial-Least-Squares-Regressionsanalyse (PLS) aus dem MIR-Spektrum für die individuellen Datensätze geschätzte Futterrationen errechnet, und den tatsächlich gemessenen Rationen gegenübergestellt. In weiteren Durchläufen wurden neben den MIR-Spektren auch Milchmenge und Krafftutteraufnahme als potentielle Vorhersagefaktoren miteinbezogen. Um die Genauigkeit der Schätzungen zu bestimmen, wurden die Korrelation zwischen beobachteten und geschätzten Werten (R) und das Verhältnis der Standardabweichung der beobachteten Werte zur durchschnittlichen Abweichung der geschätzten Werte (ratio to performance deviation; RPD) herangezogen. Hohe Korrelationen (für kg TM/für % Rationsanteil) zeigten sich in den Validierungsdatensätzen für die Rationsanteile von Weidefutter (0.85/0.87), Maissilage (0.74/0.75) und Krafftutter (0.75/0.73). Demgegenüber ergaben sich niedrigere Korrelationen für Grassilage (0.67/0.74) und Heu (0.60/0.60). Wenn die untersuchten Rationskomponenten in Futtermittelgruppen zusammengefasst wurden (Grünlandfutter oder Futtermittel mit hoher Energiedichte), dann wurden Korrelationen von überwiegend >0.8 festgestellt. Das Miteinbeziehen der zusätzlichen Vorhersagefaktoren Milchmenge und Krafftutteraufnahme verbesserte die Korrelationen um bis zu 0.08. Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass die Genauigkeit der Abschätzung der Rationszusammensetzung über das MIR-Spektrum von den Futterkomponenten abhängt. Ein beachtenswertes Potenzial zur Schätzung der Rationsbestandteile ergibt sich vor allem für jene Rationskomponenten, bei denen Korrelationen von über 0.8 erreicht wurden. Da sich bei den individuellen Datensätzen teilweise große Abweichungen zwischen gemessenen und geschätzten Werten zeigten, dürfen Einzeltielergebnisse jedoch nicht überbewertet werden. Weiterführende Untersuchungen an gepoolten Proben (Tankmilchproben, Betriebsproben etc.) sowie bei geänderten Rationstypen werden empfohlen.

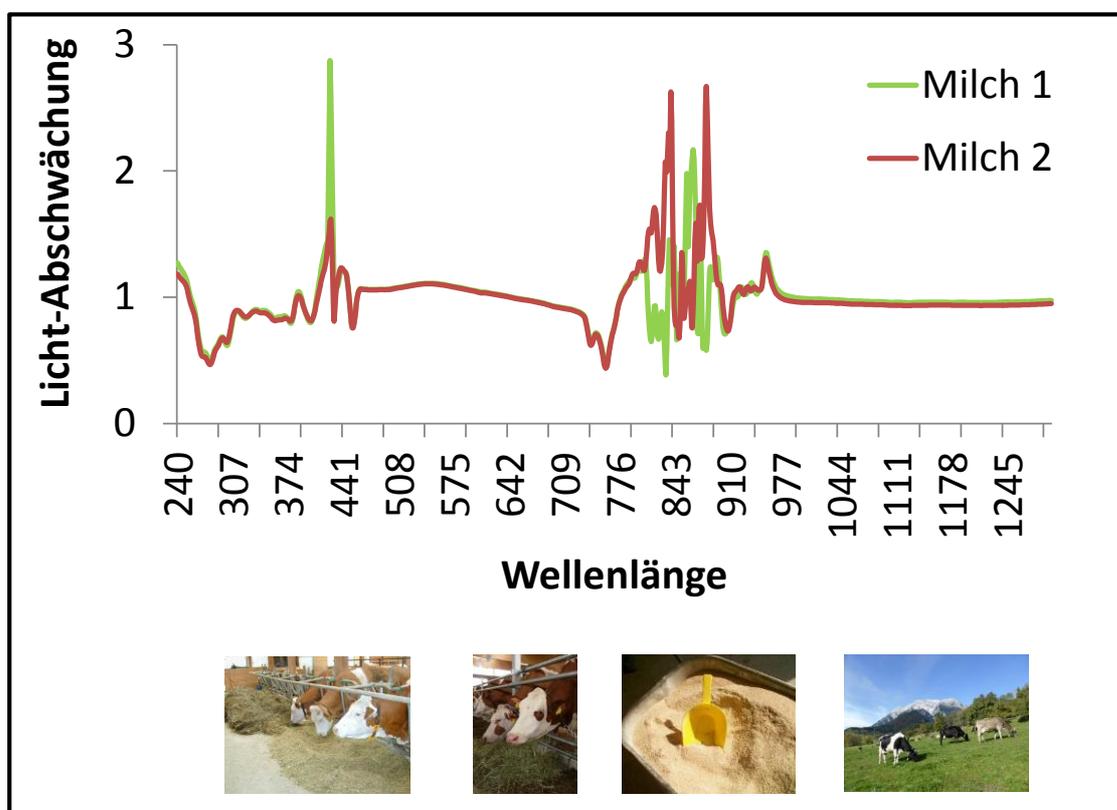
SUMMARY

The composition of cow's milk is strongly affected by the feeding regimen. Since milk components are routinely determined using mid-infrared (MIR) spectrometry, MIR spectra may potentially also be used to estimate an animal's ration composition. The objective of this study was to determine if and how well amounts of dry matter intake and the percentages in the total ration of concentrates, hay, grass silage, maize silage and pasture can be estimated using MIR spectra at an individual animal level. A total of 10200 milk samples and sets of feed intake data were collected from 90 dairy cows at two experimental farms of the Federal Research Centre in Raumberg-Gumpenstein, Austria. For each run of analysis, the data set was split into a calibration and a validation data set in a 40:60 ratio. Estimated ration compositions were calculated using a partial-least-squares (PLS) regression and then compared to the respective observed ration compositions. In separate analyses, the factors milk yield and concentrate intake were included as additional predictors. To evaluate accuracy, the correlation between observed and estimated values (R) and ratio to performance (RPD) were used. The highest R values (for kg DM intake/for % of ration) were observed for pasture (0.85/0.87), maize silage (0.74/0.75) and concentrate intake (0.75/0.73). Lower correlations were found for grass silage (0.67/0.74) and hay (0.60/0.60). Estimation of groups of feedstuffs (all forages, energy-dense feedstuffs) resulted in R values of >0.80. Including parameters milk yield and/or concentrate intake improved R values by up to 0.08. The results of this study indicate that not all ration components may be estimated equally accurate. Since there may be strong deviations between estimated and observed values in individual data sets, individual estimates should not be over-emphasised. Further research including pooled samples (bulk milk, farm samples, etc.) or variations in ration composition is called for.

EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Die Mid-Infrarot (MIR) Spektrometrie ist derzeit die Methode der Wahl zur routinemäßigen Bestimmung der Haupt-Milchinhaltsstoffe (Laktose, Fett, Eiweiß etc.). Mit Hilfe der MIR-Spektrometrie können aber auch Fettsäuren- und Mineralstoffgehalte sowie Stoffwechselprodukte in der Milch abgeschätzt werden (Ferrand-Calmels et al. 2014, Soyeurt et al. 2009). Die Zusammensetzung und Gehalte an Milchinhaltsstoffen werden wesentlich von der Futterration beeinflusst (Larsen et al. 2016). In der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, ob und mit welcher Genauigkeit die Rationszusammensetzung von Milchkühen über die MIR Spektrometrie abgeschätzt werden kann. Bei erfolgversprechenden Ergebnissen könnte die MIR-Spektrometrie als kostengünstiges Analyseverfahren zur Qualitätssicherung spezieller Qualitätsmilchprogramme (Weidemilch, Heumilch, Wiesenmilch etc.) eingesetzt und auch in der Milchviehzucht zur besseren Beschreibung der Umwelteffekte (Zuchtwerte) genutzt werden.

Abbildung 1: Beispiel für Veränderungen im MIR-Spektrum durch die Fütterung (Milch 1: Milch von Kühen bei Weidefütterung; Milch 2: Milch von Kühen bei Winterfütterung mit Maissilage und Kraftfutterfütterung)



TIERE, MATERIAL UND METHODEN

Die Daten der vorliegenden Arbeit wurden von 10.08.2013 bis 12.12.2014 in sieben noch nicht publizierten Forschungsprojekten an den zwei Milchviehversuchsbetrieben (Bio- bzw. konventioneller Betrieb) der HBLFA Raumberg-Gumpenstein (Österreich) gesammelt. Die Milchviehherden setzten sich aus unterschiedlichen Rassen (Fleckvieh, Braunvieh, Holstein Friesian (HF) Europa-Typ, HF-Neuseelandtyp und HF-Lebensleistungszucht) zusammen. Für die vorliegende Auswertung standen insgesamt 10.200 individuelle Tagesdatensätze (Milch und Futteraufnahme) von 90 Milchkühen zur Verfügung. Alle Kühe waren in Laufställen mit eingestreuten Außenliegeboxen untergebracht, wobei die individuelle Futteraufnahme im Stall mit Hilfe von Calan-Gates erhoben wurde. Die Futteraufnahmeerhebung erfolgte zweimal täglich durch Ein- und Rückwaage der Rationskomponenten und Bestimmung des jeweiligen Trockenmassegehalts (105°C über 24 h). Von den 90 Kühen wurden 31 Kühe in der Vegetationsperiode auch auf der Weide

(Kurzrasenweide, 4 bis 21 Stunden/Tag je nach Versuch) gehalten. Die Weidefutteraufnahme der Kühe wurde indirekt aus dem Energie-Nährstoffbedarf (Milchleistung, Milchinhaltsstoffe, Trächtigkeitsstadium, Lebendmasse (LM) und LM-Schwankung) und der Energieaufnahme im Stall errechnet (GfE 2001). Angaben zur Rationsgestaltung finden sich in Tabelle 1. Die durchschnittliche T-Aufnahme der Kühe lag bei $15,1 \pm 4,2$ kg T, über das Kraftfutter wurden davon im Durchschnitt $1,26 \pm 1,11$ kg Gerste, $0,55 \pm 0,61$ kg Körnermais, $0,39 \pm 0,36$ kg Sojaextraktionsschrot, $0,39 \pm 0,37$ kg Rapsextraktionsschrot, $0,64 \pm 1,21$ kg Weizen und geringe Mengen ($<0,25$ kg) an Trockenschnitzeln, Sojabohnenschalen, Erbsen, Triticale, Ackerbohnen und Weizenkleie aufgenommen.

Tabelle 1: Futteraufnahme und Energiegehalt der Rationskomponenten⁰

	Futteraufnahme, kg T/Tier u. Tag				Energie, MJ NEL/kg T	
	Mittel	SD	Min	Max	Mittel	SD
Futteraufnahme, kg T	15,1	4,2	5	27	6,57	0,36
Heu (H), kg T	3,2	3,1	0	23	5,88	0,15
Grassilage (GS), kg T	4,4	3,2	0	23	5,98	0,10
Maissilage (MS), kg T	2,6	1,7	0	7	6,33	0,08
Weidefutter (W), kg T	2,1	4,6	0	21	6,40	0,22
Kraftfutter (KF), kg T	3,3	3,0	0	13	8,47	0,12

Alle Kühe wurden täglich zweimal gemolken und die Milchmenge kuhindividuell erfasst. Die gekühlten und mit Konservierungsmittel versehenen Morgen- und Abendmilchproben wurden zu gleichen Teilen zu einer kuhindividuellen Tagesprobe vereint, gekühlt gelagert und wöchentlich an das LKV-Milchlabor (St. Michael) gesandt. Dort wurden die Milchinhaltsstoffe mit Hilfe des MIR-Spektrums mit einer MilkoScan Apparatur (MilkoScan FT6500; Foss, Hillerød, Denmark) und dem Datenintegrator v1.58 bestimmt. Die MIR-Spektraldaten wurden abgespeichert und umfassten 1060 Datensätze (Absorptionsraten bei verschiedenen Wellenzahlen) pro Probe im Bereich von 926 cm^{-1} bis 5.012 cm^{-1} . Diese MIR-Datensätze wurden ohne Vorbehandlung zur statistischen Auswertung herangezogen und den entsprechenden Tages-Futteraufnahmedaten gegenübergestellt. Im Mittel waren die Kühe in der $1,85 \pm 1,41$ (Min-Max: 1-9) Laktation, hatten eine Lebendmasse von 545 ± 98 kg und gaben $20,0 \pm 7,1$ kg Milch. Der Milchfettgehalt betrug $4,25 \pm 0,73$ %, der Eiweißgehalt $3,23 \pm 0,36$ %, der Laktosegehalt $4,62 \pm 0,20$ % und der Milchharnstoffgehalt lag bei $20,2 \pm 10,8$ mg/100 ml. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem „Partial Least Squares (PLS) Regressionsmodell“ im SAS-Programmpaket (SAS 9.4 TS Level 1M2). Alle im Ergebnisteil angeführten PLS-Ergebnisse (R, Abweichungsmaßzahlen) stellen Mittelwerte von 50 PLS-Prozedurdurchläufen dar. Der Datensatz wurde bei jeder PLS-Prozedur zufällig in einen Kalibrierungs- bzw. Validierungsdatensatz im Verhältnis 40:60 % geteilt. Dieses Verhältnis lieferte die höchsten durchschnittlichen Korrelationskoeffizienten (R) zwischen den gemessenen und geschätzten Futteraufnahmedaten, bei vertretbarer Berechnungszeit. Bei jeder PLS-Prozedur wurde auf Basis von latenten Variablen („fiktive“ Faktoren mit Vorhersagekraft im MIR-Spektrum) eine Schätzgleichung erstellt, welche die größte Vorhersagegenauigkeit lieferte. Die optimale Anzahl an latenten Variablen wurde für jedes Futtermittel auf Basis der erzielten Korrelationskoeffizienten und Abweichungsmaßzahlen individuell festgesetzt und lag zwischen 80 und 130 Variablen. Zusätzlich zu den MIR-Spektraldaten wurden in weiteren PLS-Auswertungsschritten geprüft, ob zusätzliche Informationen zur Tagesmilchleistung der Kühe bzw. zur Kraftfutteraufnahme die Vorhersagegenauigkeit erhöhen können. In den Ergebnistabellen sind für jedes Futtermittel bzw. jede Futtermittelgruppen die Korrelationskoeffizienten (R) zwischen gemessenen und geschätzten Werten aus den 50 PLS-Prozedurdurchläufen angeführt. Der RMSE („root mean square error“) beschreibt die durchschnittliche Abweichung der Schätzwerte von den gemessenen Werten. Da dieser Wert jedoch vom durchschnittlichen Rationsanteil beeinflusst wird, wurde auch der RPD-Wert („ratio to performance deviation“) berechnet. Dabei wird die Standardabweichung der gemessenen Werte eines Futtermittels durch dessen RMSE-Wert dividiert. Zur Beschreibung etwaiger systematischer Fehler wurden die BIAS- und SLOPE-Werte berechnet. Der BIAS-Wert wurde als nicht signifikant bezeichnet, wenn der absolute BIAS-Wert abzüglich der Standardabweichung*1,96 kleiner 0 war. Der SLOPE-Wert wurde als nicht signifikant unterschiedlich von 1 angesetzt, wenn der SLOPE plus die Standardabweichung*1,96 größer 1 war.

Tabelle 2: Korrelationskoeffizienten und Abweichungsparameter zwischen erhobenen und berechneten Rationsdaten für die Validierungsdatensätze

PLS-Einflussvariablen:	MIR-Spektrum (MIR)					MIR+M ¹⁾		MIR+M+KF ²⁾	
	R	RPD	RMSE	BIAS	SLOPE	R	RPD	R	RPD
Futtermittelaufnahme, kg T									
Weidefutter (W), kg T	0,85	1,9	2,4	0,01	0,97	0,85	1,9	0,86	2,0
Krafftutter (KF), kg T	0,75	1,5	2,0	0,00	0,95	0,83	1,8		
Maissilage (MS), kg T	0,74	1,5	1,2	0,00	0,93	0,74	1,5	0,74	1,5
Grassilage (GS), kg T	0,67	1,4	2,4	-0,01	0,94	0,68	1,4	0,68	1,4
Heu (H), kg T	0,60	1,2	2,5	0,00	0,91	0,61	1,3	0,61	1,3
GS+H, kg T	0,84	1,9	2,3	0,01	0,98	0,86	2,0	0,86	2,0
GS+H+W, kg T	0,72	1,4	2,4	-0,01	0,92	0,73	1,5	0,76	1,5
MS+KF, kg T	0,82	1,7	2,3	0,00	0,97	0,87	2,0		
Rationsanteil, %									
Weidefutter (W), %	0,87	2,0	17	0,05	0,97	0,87	2,1	0,88	2,1
Krafftutter (KF), %	0,73	1,5	10	-0,04	0,94	0,79	1,6		
Maissilage (MS), %	0,75	1,5	7	-0,02	0,93	0,76	1,5	0,77	1,6
Grassilage (GS), %	0,74	1,5	13	-0,03	0,94	0,74	1,5	0,75	1,5
Heu (H), %	0,60	1,3	13	0,00	0,92	0,61	1,3	0,62	1,3
GS+H, %	0,85	1,9	13	0,00	0,96	0,85	1,9	0,87	2,0
GS+H+W, %	0,83	1,8	11	0,01	0,96	0,85	1,9	0,92	2,5
MS+KF, %	0,83	1,8	11	0,00	0,97	0,85	1,9		

¹⁾ MIR+M: MIR-Spektrum + Milchtagesleistung als Einflussvariablen im PLS-Modell

²⁾ MIR+M+KF: MIR-Spektrum + Milchtagesleistung + Krafftutteraufnahme als Einflussvariablen

ERGEBNISSE

Bei ausschließlicher Nutzung der MIR-Spektrendaten zur Schätzung der Rationszusammensetzung wurden Korrelationskoeffizienten (R) zwischen 0,6 und 0,9 festgestellt (Tabelle 2). Bei allen Merkmalen zeigte sich kein signifikanter BIAS. Die SLOPE-Ergebnisse unterscheiden sich nicht signifikant von 1, mit der Ausnahme von Heu (kg T), Weidefutter (kg T) der GS+H-Aufnahme, bei denen der SLOPE auf eine leichte Überschätzung bei geringen und eine leichte Unterschätzung bei hohen Werten hinweist. Die RPD-Werte lagen je nach Futtermittel zwischen 1,2 und 2,1. Bei den Einzelfutterkomponenten zeigten sich die höchsten Korrelationskoeffizienten für die Weidefuttermittelaufnahme (0,85) und den Weidefuttermittelsrationsanteil (0,87). Auch für die Aufnahme an konserviertem Grünlandfutter (GS+H), die Aufnahme an MS+KF bzw. deren Rationsanteile (%) sowie den Grünlandfuttermittelsrationsanteil (GS+H+W) wurden Korrelationskoeffizienten über 0,8 festgestellt. Auch bei den RPD-Ergebnissen erzielten diese Futtermittel bzw. Futtermittelgruppen die vielversprechendsten Ergebnisse. Bei zusätzlicher Berücksichtigung der Tagesmilchleistung im PLS-Modell erhöhte sich R am deutlichsten bei der Krafftutter-Abschätzung. Wenn weiters noch die Krafftuttermenge im Modell berücksichtigt wurde, dann stieg R in allen Kategorien leicht, am deutlichsten aber bei dem Grünlandfutter-Rationsanteil (GS+H+W) an.

DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

Vielversprechend können die vorliegenden Ergebnisse auf Grund der R-Werte >0,8 und RPD-Werte von 2 vor allem für Weidefutter und einige Futtermittelgruppen (GS+H, GS+H+W; KF+MS) eingestuft werden. Nach Karoui et al. (2006) ermöglichen R-Werte im Validierungsdatensatz zwischen 0,8-0,9 approximative quantitative Abschätzungen und weisen RPD-Werte von $\geq 2,0$ auf die analytische Nutzungsmöglichkeit von Methoden hin. McParland et al. (2012) nutzten MIR-Milchdaten zur Beurteilung der Energieversorgung von Milchkühen. Die Autoren stuften R-Werte zwischen 0,5 und 0,8 als „angemessen genau“ ein. Vanlierde et al. (2016) schätzten die Methanemissionen mit MIR-Daten ab und bezeichneten R-Werte von 0,84 als ausreichend für Screening-Tools um diese in der Zucht und im Management zu nutzen. Die Abweichungsparameter der vorliegenden Arbeit weisen aber auch darauf hin, dass bei im Durchschnitt guten Ergebnissen bei Einzelproben deutliche

Abweichungen bestehen können. In weiterführenden Untersuchungen (Tankmilchproben, geänderte Rationen) soll diesen Zusammenhängen nachgegangen werden.

LITERATUR

- Ferrand-Calmels, M., Palhière, I., Brochard, M., Leray, O., Astruc, J.M., Aurel, M.R., Barbey, S., Bouvier, F., Brunshwig, P., Caillat, H., Douguet, M., Faucon-Lahalle, F., Gelé, M., Thomas, G., Trommenschlager, J.M., Larroque, H., (2014): Prediction of fatty acid profiles in cow, ewe, and goat milk by mid-infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 97, 1, 17-35.
- GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie), (2001): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder. Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. DLG-Verlag, Frankfurt am Main.
- Karoui, R., Mouazen, A. M., Dufour, E., Pillonel, L., Schaller, E., De Baerdemaeker, J., Bosset, J. O., 2006. Chemical characterisation of European Emmental cheeses by near infrared spectroscopy using chemometric tools. *International Dairy Journal*, 16, 10, 1211-1217.
- Larsen, T., Alstrup, L., Weisbjerg, M. R., (2016): Minor milk constituents are affected by protein concentration and forage digestibility in the feed ration. *Journal of Dairy Research*, 83, 12-19.
- McParland, S., Banos, G., McCarthy, B., Lewis, E., Coffey, M. P., O'Neill, B., O'Donovan, M., Wall, E., Berry, D. P., 2012. Validation of mid-infrared spectrometry in milk for predicting body energy status in Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 12, 7225-7235.
- Soyeurt, H., Bruwier, D., Romnee, J.-M., Gengler, N., Bertozzi, C., Veselko, D., Dardenne, P., (2009): Potential estimation of major mineral contents in cow milk using mid-infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 92, 6, 2444-2454.
- Vanlierde, A., Vanrobays, M. L., Gengler, N., Dardenne, P., Soyeurt, H., McParland, S., Lewis, E., Deighton, M. H., Mathot, M., Dehareng, F., 2016. Milk mid-infrared spectra enable prediction of lactation-stage- dependent methane emissions of dairy cattle within routine population-scale milk recording schemes. *Animal Production Science*, 56, 258-264.