

Fettsäuremuster von Milchproben von Praxisbetrieben sowie Ergebnisse zur Genauigkeit der MIR-Fettsäuregruppenbestimmung

Andreas Steinwider^{1*}, Edina Scherzer^{1,2} und Werner Zollitsch²

Zusammenfassung

Zur Bestimmung des Fettsäuregehalts werden heute, neben den klassischen Analyseverfahren wie der Gaschromatographie (GC), auch kostengünstigere Schnellmethoden angewandt.

In der vorliegenden Arbeit sollte die Genauigkeit der über ein Mid-Infrarot-Verfahren (MIR) des „MilkoScan FT6000 Software-Pakets“ ermittelten Fettsäurekonzentrationen anhand von GC-Fettsäuregehalten evaluiert werden. Dazu wurde auf ausgewählte Proben von Praxisbetrieben bzw. LKW-Tankmilchproben von Milchviehbetrieben einer Kärntner Molkerei (Kärntnermilch) zurückgegriffen. Dreimal jährlich (November 2017, März 2018, Juni 2018) wurden auf fünf Praxisbetrieben (2 biologisch und 3 konventionell wirtschaftende) der Kärntnermilch Liefermilch-Hofmischproben sowie von drei Milchsammelrunden Tankmilchproben (2 biologische und 1 konventionelle) gezogen. Die Milchproben der biologisch wirtschaftenden Betriebe entfielen dabei alle auf Bio-Wiesenmilch-Betriebe. Weiters sollten auch Effekte der Bewirtschaftung (biologisch „Bio-Wiesenmilchprojekt“ bzw. konventionell „gentechnikfrei“) sowie der Saison (Sommer- bzw. Winterfütterungssituation) auf die Milch-Fettsäurekonzentrationen untersucht werden.

Im GC-Fettsäuremuster wurden signifikante Unterschiede zwischen den Wirtschaftsweisen (Bio-Wiesenmilch versus konventionelle gentechnikfreie Milch) und den Saisonen (Sommer- versus Winterfütterungssituation) festgestellt. Die Anteile an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA), konjugierte Linolsäuren (CLA) und Omega-3-Fettsäuren (ω -3-FA) lagen in den Proben der Bio-Wiesenmilchbetriebe signifikant über jenen der konventionellen Betriebe. Unabhängig von der Wirtschaftsweise lagen in den Sommermilchproben die CLA-, einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) und ungesättigten Fettsäuren (UFA) höher als in den Wintermilchproben, wobei die saisonalen Effekte bei den Bio-Betrieben stärker ausgeprägt waren als bei den konventionellen Betrieben. Die MIR-Analyseergebnisse korrelierten hinsichtlich der Konzentrationen an UFA bzw. gesättigten Fettsäuren (SFA) sowie an MUFA mit den Ergebnissen der GC-Analytik hoch ($r=0,95$). Es zeigten sich jedoch systematische Abweichungen, die bei der Ergebnisinterpretation bzw. bei Eichungen zu berücksichtigen sind. Hinsichtlich der Konzentration an PUFA zeigte sich nur ein moderater Zusammenhang ($r=0,57$) zwischen den Analysemethoden und es wurde

Summary

In addition to classical fatty acid analytical methods – such as gas chromatography (GC) - more time- and cost-effective rapid methods are now available for determining the milk fat composition.

In the present study, the accuracy was evaluated of fatty acid concentrations determined by mid-infrared spectrometry (MIR) with the “MilkoScan FT6000 Software Package”. The fatty acid contents determined with the GC were used as “gold standard”. For this purpose, selected milk samples from individual farms or tank milk samples of farms in Carinthia (dairy “Kärntnermilch”) were used. Three times a year (November 2017, March 2018, June 2018), delivery milk samples were taken from five farms (2 organic and 3 conventional farms) of Kärntnermilch and from three milk collection rounds (tank milk samples from 2 organic and 1 conventional round).

All organic farms followed the production guidelines of “Bio-Wiesenmilch”. Based on the GC-dataset and an additional comprehensive MIR fatty acid data set (January 2019 and June 2019; N=983 farms), the effects of the management (organic „Bio-Wiesenmilch“ versus conventional „GMO-free“) and period (summer versus winter feeding situation) on the milk fatty acid concentrations were investigated.

The proportions of relevant fatty acid groups in the milk were significantly different between the production systems (organic versus conventional) and periods (summer versus winter feeding situation). In the milk samples of the organic farms, the proportions of polyunsaturated fatty acids (PUFA), conjugated linoleic acids (CLA) and omega-3-acids (ω -3-FA) were significantly higher than in those of the conventional farms. Regardless of the production system, the CLA, monounsaturated fatty acids (MUFA) and unsaturated fatty acids (UFA) concentrations in the summer milk samples were higher than those in the winter milk samples. The seasonal effects were more pronounced in the organic system than in the conventional system. The MIR analysis results were highly correlated ($r=0.95$) with the results of the GC analysis for the concentrations of UFA, saturated fatty acids (SFA) and MUFA. However, there were systematic deviations that have to be taken into account when interpreting the results. For the PUFA only a moderate correlation ($r=0.57$) was found between the two methods. Additionally, a substantial variance was found, 95 % of the MIR results for PUFA

¹ HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Institut für Biologische Landwirtschaft und Biodiversität der Nutztiere, Raumberg 38, A-8952 Irdning-Donnersbachtal

² Universität für Bodenkultur, Department für nachhaltige Agrarsysteme, Institut für Nutztierwissenschaften, Gregor-Mendel-Straße 33, A-1180 Wien

* Ansprechpartner: PD Dr. Andreas Steinwider, andreas.steinwider@raumberg-gumpenstein.at



auch eine große Streuung festgestellt: 95 % der MIR-Ergebnisse für die PUFA lagen zwischen 9,5 % und 40,4 % unter den GC-Ergebnissen.

Schlagwörter: Milch, Fettsäuren, Mid-Infrarot Spektrometrie, biologisch

differed between -9.5 % and -40.4 % from the GC results.

Keywords: milk, fatty acids, mid-infrared spectrometry, organic

1. Einleitung

Die Erfassung der Fettzusammensetzung gewinnt in der Molkereiwirtschaft zunehmend an Bedeutung. Die Analytik der Fettsäuregehalte (FA) mittels Gaschromatographie (GC) stellt ein standardisiertes, aber relativ aufwändiges Messverfahren dar. Heute gewinnen kostengünstigere Schnellmethoden in der Routineanalytik an Bedeutung. Dazu zählt auch die Mid-Infrarot-Spektroskopie (MIR), welche in der Milchverarbeitungsbranche seit Jahrzehnten zur Bestimmung der milchpreisrelevanten Milch Inhaltsstoffe (Fett, Eiweiß etc.) verwendet wird. Die MIR-Analytik arbeitet in einem Wellenlängenbereich (400 bis 4.000 cm^{-1}), in dem chemische Verbindungen besondere Absorptionseigenschaften zeigen. Das dabei erzeugte MIR-Spektrum veranschaulicht diese Absorptionen bei verschiedenen Wellenlängen. Wie Forschungsergebnisse zeigen, ist die FA-Bestimmung in Milch mittels MIR-Analytik bei mengenmäßig bedeutenden Fettsäuregruppen (z.B. ungesättigten Fettsäuren) bzw. einzelnen Fettsäuren (z.B. C12:0, C14:0) als robust und präzise einzustufen, die Genauigkeit nimmt jedoch insbesondere bei FA-Gruppen bzw. Fettsäuren ab, welche nur in niedrigeren Konzentrationen vorliegen (Soyeurt et al., 2006, 2011; De Marchi et al., 2011). Das Fett der Kuhmilch besteht zu etwa 70 % aus gesättigten Fettsäuren (SFA), 25-27 % aus einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) und 3 bis 5 % mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA).

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Genauigkeit der mittels MIR ermittelten Fettsäurekonzentrationen im Vergleich zu gaschromatographisch bestimmten Fettsäuregehalten anhand von Betriebs- bzw. LKW-Tankmilchproben zu evaluieren. Weiters sollten anhand dieser Proben sowie eines umfangreichen MIR-Fettsäuredatensatzes Effekte der Wirtschaftsweise (biologisch „Bio-Wiesenmilch“ versus konventionell „gentechnikfrei“) und der Saison (Sommer versus Winterfütterung) auf die Milch-Fettsäurekonzentrationen untersucht werden.

2. Material und Methode

2.1 Feldproben „GC- und MIR-Fettsäurebestimmung“

Dreimal jährlich (Wintersaison: 1.-5. Nov. 2017 und 1.-5. März 2018; Sommersaison: 1.-5. Juni 2018) wurden auf fünf Praxisbetrieben der Kärntnermilch (zwei biologisch wirtschaftende Betriebe; drei konventionell wirtschaftende Betriebe) Liefermilch-Mischproben sowie von drei Milchsammlerwagentouren Tankmilchproben (drei Regionen, zwei Wirtschaftsweisen; Katschtal (biologisch), Patergassen-Obermillstatt (biologisch), unteres Drautal (konventionell)) gezogen. Die Milchproben der biologisch wirtschaftenden Betriebe entfielen alle auf Bio-Wiesenmilch-Betriebe. Diese müssen spezielle, über die üblichen Richtlinien (VO (EG) Nr. 834/2007; VO (EG) Nr. 889/2008) hinausgehende Vor-

gaben hinsichtlich Mindestanteilen an Weide- und Grünfütter während der Vegetationsperiode bzw. an konserviertem Grünfütter während der Winterfütterungsperiode, sowie eine Begrenzung des Maissilage- und Kraftfutteranteils einhalten (ARGE Biowiesenmilch, o.J.). Die konventionellen Milchproben kamen überwiegend von Silagebetrieben, auf denen – vorwiegend im Winter – meist auch bedeutende Mengen an Maissilage gefüttert werden. Die von den Betrieben bzw. Tankmilchwägen gezogenen Milchproben (500 ml) wurden geschüttelt und dann auf zwei Teilproben zu je 250 ml aufgeteilt. Jeweils eine Probe davon wurde vor der gaschromatographischen Untersuchung an der HBLFA Raumberg-Gumpenstein tiefgefroren. Die zweite Probe wurde unmittelbar nach der Probenziehung zur Bestimmung der Milch Inhaltsstoffe und Fettsäuregehalte mittels Mid-Infrarot-Analytik herangezogen.

2.2 Lieferbetriebsproben „MIR-Fettsäurebestimmung“

Der umfangreiche Lieferbetriebsdatensatz umfasste MIR-Ergebnisse von 2.101 Proben von 1.065 Betrieben, welche die Kärntnermilch beliefern (Winterbeprobungen im Jänner 2019: 1.065 Datensätze; Sommerbeprobungen im Juni 2019: 1.036 Datensätze). Davon wurden jene Betriebsdatensätze ausgeschieden, für die keine vollständige Winter- plus Sommerbeprobung vorlag. Weiters wurden auch jene Datensätze biologisch wirtschaftender Betriebe ausgeschieden ($n=10$), deren Milch nicht in die Bio-Wiesenmilch-Schiene der Kärntnermilch geliefert wurden. Der für die Auswertung verwendete Datensatz ($n=1.966$) enthielt 466 Datensätze von 233 Bio-Wiesenmilchbetrieben und 1.500 Datensätze von 750 konventionell (gentechnikfrei) wirtschaftenden Betrieben.

2.3 Gaschromatographische Milchfettsäureanalytik

Die Extraktion des Fettes für die gaschromatographische Fettsäuren-Analyse (Feldprobendatensatz siehe 2.1) wurde nach der Methode von Folch et al. (1957) mit leichter Modifikation durchgeführt. Anschließend erfolgte die Derivatisierung zu Fettsäuremethylester mit Trimethylsulfoniumhydroxid (Dgf, 2006). Die Bestimmung der Einzel-FA erfolgte mittels Gaschromatographen (Varian, Modell 3900), ausgestattet mit einem Flammen-Ionisierungs-Detektor, einem automatischen Injektor, einem Split-Injektor sowie der Säule Supelco SPTM 2380 (100 $\text{m} \times 0,25 \text{mm} \times 0,2 \mu\text{m}$ Filmdicke). Die Injektions- bzw. Detektionstemperatur betragen 250 bzw. 260°C. Als Trägergas diente Helium bei konstantem Säulendruck (3,4 bar). Die Säulentemperatur wurde zu Beginn für 1 Minute bei 60°C gehalten; dann wurde die Temperatur mit 8°C pro Minute bis auf 120°C und anschließend mit 1,5°C pro Minute bis auf 240°C erhöht. Für die Peak-Identifikation wurden ein Standardmix

mit 37 unterschiedlichen Fettsäure-Methylestern (Supelco Inc.) sowie individuellen FA-Standards von Sigma Aldrich, Supelco, Matreya und Larodan verwendet.

2.4 MIR-Fettsäuregruppen-Analyse

Die Milchproben (Feldproben siehe 2.1; Lieferbetriebsproben siehe 2.2) wurden im Labor der Kärntnermilch einer Mid-Infrarot-Schnellanalyse (MIR) mittels MilkoScan FT6000 unterzogen. Vor der Untersuchung wurden die Proben auf 40 +/-3 °C erwärmt und mittels MilkoScan FT6000 die Milchinhaltsstoffe (Fett, Protein, Laktose, Kasein, Harnstoff, Fettsäuregruppen) auf Basis der FTIR Technik (Fournier Transform Infrared Spectroscopy) bestimmt. Über das MilkoScan FT6000 Software-Paket werden zusätzlich auch Gehalte zu folgenden Fettsäuregruppen in g/100 ml Milch ausgewiesen: ungesättigte Fettsäuren (UFA), einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA), mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) und gesättigte Fettsäuren (SFA). Diese Gehalte (g/100 g Milch) wurden anschließend auf die Gehalte je 100 g Fettsäuren (g/100 g FA) umgerechnet (z.B. UFA [g/100 g Fettsäure] = UFA [g/100 g Milch] / (SFA + UFA [g/100 g Milch]) * 100.

2.5 Statistische Auswertung

Mit Hilfe des SAS 9.4 Statistikprogramms (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) wurden die gaschromatografisch ermittelten FA-Ergebnisse der konventionellen Milchproben mit den Bio-Wiesenmilch-Proben in einem gemischten Modell mit den fixen Effekten Bewirtschaftung (bio vs. kon) und Saison (Wi: Winter vs. So: Sommer) sowie dem zufälligen genesteten Effekt für Betrieb (bzw. Region) innerhalb Bewirtschaftung (Freiheitsgrad-Approximation ddfm=kr) ausgewertet. Die Ergebnisse dazu werden als Least-Square-Means angegeben, zusätzlich werden auch die Residualstandardabweichung (s_e) und die P-Werte für die Variablen Wirtschaftsweise und Saison sowie die Wechselwirkung Wirtschaftsweise x Saison angeführt. Die paarweisen Vergleiche wurden mithilfe des Tukey-Tests durchgeführt, Mittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben weisen in den Ergebnissen auf signifikante Differenzen (P<0,05) hin.

Der Vergleich der GC-Analyse und MIR-Analyse erfolgte mit dem Statistikprogramm STATGRAPHICS® Centurion XVII (Statpoint Technologies, Inc.) mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Pearson. Nach Held (2010)

weist ein Korrelationskoeffizient von über 0,3 auf einen schwachen, über 0,5 auf einen moderaten und über 0,8 auf einen engen Zusammenhang zwischen zwei Variablen hin. Weiters wurde die durchschnittliche Übereinstimmung der Messwerte sowie die Streuung und Lage der individuellen Messwertdifferenzen mit Hilfe der „Bland-Altman-Methode“ analysiert (Grouven et al., 2007). Die Ergebnisse der gaschromatographischen Analysen wurden dabei als „Goldstandard“ angesehen.

Der umfangreiche MIR-Datensatz der Lieferbetriebe (siehe 2.2) wurde mit SAS 9.4 Statistikprogramms (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) mit einem gemischten Modell und den fixen Effekten Bewirtschaftung (bio versus kon) und Saison (W: Winter bzw. S: Sommer) sowie dem zufälligen genesteten Effekt für Betrieb innerhalb Wirtschaftsweise (Freiheitsgrad-Approximation ddfm=kr) ausgewertet. Die Ergebnisse dazu werden als Least-Square-Means angegeben, zusätzlich werden auch die Residualstandardabweichung (s_e) und die P-Werte für die Variablen Wirtschaftsweise und Saison sowie die Wechselwirkung Wirtschaftsweise x Saison angeführt. Die paarweisen Vergleiche wurden mithilfe des Tukey-Tests durchgeführt, Mittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben weisen auf signifikante Differenzen (P<0,05) hin.

3. Ergebnisse

In Tabelle 1 sind die gaschromatografisch ermittelten Ergebnisse ausgewählter Fettsäuregruppen für die Effekte Wirtschaftsweise und Saison bzw. die Wechselwirkung aus Wirtschaftsweise x Saison dargestellt. Die Anteile an PUFA, CLA und ω-3-FA lagen in den Proben der Bio-Wiesenmilchbetriebe signifikant über jenen der konventionellen Betriebe. Unabhängig von der Wirtschaftsweise lagen in den Sommermilchproben die CLA-, MUFA- und UFA-Konzentrationen höher als in den Wintermilchproben. Dabei ist zu beachten, dass bei den SFA-, MUFA-, UFA- und CLA-Konzentrationen signifikante Wechselwirkungen zwischen der Wirtschaftsweise und der Saison bestanden: Bei den biologischen Milchproben waren die saisonalen Effekte deutlicher ausgeprägt als bei den konventionellen Proben; die Sommermilchproben der Bio-Betriebe wiesen die höchsten MUFA-, PUFA-, UFA- und CLA-Gehalte auf. Zwischen den konventionellen und biologischen Milchproben zeigten sich in den Sommerfütterungsmonaten größere Differenzen im Fettsäuremuster als in der Winterfütterungsperiode.

Tabelle 1: Anteile an ausgewählten Fettsäuregruppen (GC-Analytik) in der Milch (ausgewählter Praxisbetriebsdatensatz)

Fettsäuren ¹	Wirtschaftsweise (W)		Saison (S)		Saison x Wirtschaftsweise (S x W) ²				s _e	W	P-Wert	
	bio	kon	So	Wi	So bio	So kon	Wi bio	Wi kon			S	W x S
GC-Analytik												
SFA, g/100 g FA	70,4	72,5	70,0	72,9	67,9 ^b	72,1 ^a	73,0 ^a	72,9 ^a	1,08	0,108	<0,001	<0,001
MUFA, g/100 g FA	25,4	23,9	26,0	23,2	27,8 ^a	24,2 ^{ab}	23,0 ^b	23,5 ^b	1,02	0,233	<0,001	0,001
PUFA, g/100 g FA	4,16	3,58	3,98	3,76	4,33 ^a	3,63 ^{bc}	4,00 ^{ab}	3,53 ^c	0,277	0,003	0,088	0,364
UFA, g/100 g FA	29,6	27,4	30,0	27,0	32,1 ^a	27,9 ^b	27,0 ^b	27,0 ^b	1,13	0,092	<0,001	0,001
CLA, g/100 g FA	1,11	0,75	1,07	0,79	1,33 ^a	0,82 ^b	0,90 ^b	0,69 ^b	0,124	0,010	<0,001	0,014
iso FA, g/100 g FA	1,89	1,85	1,86	1,87	1,91	1,81	1,86	1,88	0,111	0,701	0,886	0,241
ω-3-FA, g/100 g FA	1,12	0,81	0,91	1,03	1,05 ^{ab}	0,76 ^b	1,19 ^a	0,86 ^{ab}	0,174	0,043	0,143	0,754
ω-6-FA, g/100 g FA	1,93	2,01	2,00	1,94	1,95	2,05	1,91	1,98	0,110	0,538	0,239	0,772
ω-6/ω-3 Verhältnis	1,75	2,70	2,36	2,10	1,87	2,85	1,64	2,56	0,401	0,071	0,150	0,851

¹ SFA=gesättigte Fettsäuren, MUFA=einfach ungesättigte Fettsäuren, PUFA=mehrfach ungesättigte Fettsäuren, UFA=ungesättigte Fettsäuren, CLA=konjugierte Linolsäure, iso-FA=iso Fettsäuren, ω-3-FA=Omega-3 Fettsäuren, ω-6-FA=Omega-6

² unterschiedliche Hochbuchstaben weisen auf signifikante Differenzen zwischen den Untergruppen (B x T) hin

Tabelle 2: Beziehungen zwischen den Ergebnissen der GC- und MIR-Analytik für die Fettsäuregruppen SFA, MUFA, PUFA und UFA

	arithm. Mittel ^{1,2}		Standardabw. ^{1,2}		lineares Reg. Modell ^{1,2}	P-Wert	r	Standardfehler Schätzung ¹	Mittlerer Absolutfehler ¹
	GC	MIR	GC	MIR					
SFA ²	72,0	68,8	2,42	2,49	SFA-GC = 8,50 + 0,9229*SFA-MIR	<0,001	0,95	0,78	0,66
MUFA ²	24,2	25,7	2,32	1,83	MUFA-GC = -6,85 + 1,2050*MUFA-MIR	<0,001	0,95	0,76	0,65
PUFA ²	3,83	2,87	0,396	0,350	PUFA-GC = 2,00 + 0,6391*PUFA-MIR	0,004	0,57	0,34	0,27
UFA ²	28,0	31,2	2,43	2,49	UFA-GC = -0,81 + 0,9220*UFA-MIR	<0,001	0,95	0,82	0,71

¹ Angaben in g/100g FA

² SFA bzw. SFA-GC oder SFA-MIR = gesättigte Fettsäuren ermittelt mit GC- oder MIR-Analytik; MUFA bzw. MUFA-GC oder MUFA-MIR = einfach ungesättigte Fettsäuren ermittelt mit GC- oder MIR-Analytik; UFA bzw. UFA-GC oder UFA-MIR = ungesättigte Fettsäuren ermittelt mit GC- oder MIR-Analytik

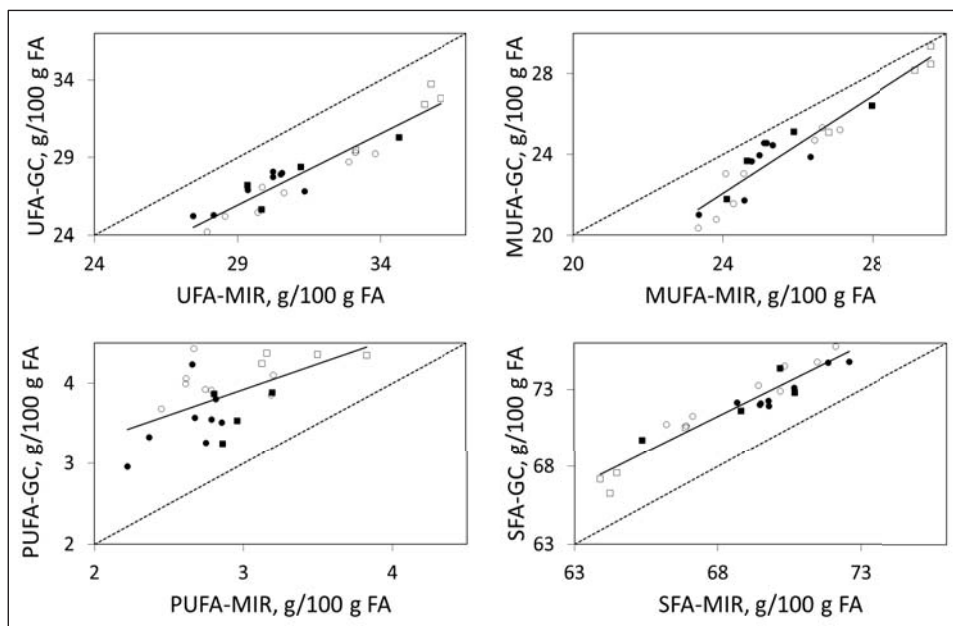


Abbildung 1: Gegenüberstellung der Ergebnisse aus GC- bzw. MIR-Analytik für die Fettsäuregruppen UFA, MUFA, PUFA und SFA (in g/100 g FA; ●...konventionell Winterfütterung, ○...bio Winterfütterung, ■...konventionell Sommerfütterung, □...bio Sommerfütterung)

Wie die Ergebnisse in Tabelle 2 sowie Abbildung 1 zeigen, ergaben sich für die UFA-, MUFA- und SFA-Konzentrationen hohe Korrelationen (0,95) zwischen den Ergebnissen der unterschiedlichen Analysenmethoden. Trotzdem muss im Mittel mit Differenzen und mit systematischen Abweichungen der Messergebnisse gerechnet werden. Bei der MIR-Analytik wurden die UFA-Konzentrationen in allen Proben im Vergleich zu den gaschromatographischen Ergebnissen über- und dementsprechend die SFA-Konzentrationen unterschätzt. Entsprechend der Bland-Altman Analyse lagen in durchschnittlich 95 % der Fälle die Konzentrationen nach der MIR-Analytik bei den UFA um 1,6 bis 4,9 % absolut höher und dementsprechend in der SFA-Konzentration um 1,6 bis 4,9 % tiefer als jene nach der GC-Analytik. In der MUFA-Konzentration wurden im Mittel höhere MIR-Werte festgestellt, wobei die Methodendifferenzen bei den MUFA bei abnehmenden MUFA-Gehalten in der Milch zunahmen. 95 % der Daten wichen in den MUFA-Konzentrationen, analysiert mit der MIR-Analytik, im Bereich von 3,20 bis -0,06 g/100 g FA von den Ergebnissen der GC-Analytik ab. Bei den mehrfach ungesättigten Fettsäuren lag demgegenüber der Korrelationskoeffizient mit 0,57 deutlich tiefer. Alle ausgewiesenen Werte der MIR-Schnellanalyse waren geringer als jene der GC-Analyse. 95 % der Messwertpaare zeigten eine absolute Differenz zwischen den Methoden

von -0,27 bis -1,67 g/100 g FA bzw. wichen relativ zwischen 9,5 und 40,4 % negativ von den GC-Analysergebnissen ab.

Die MIR-Ergebnisse zu den Milchinhaltsstoffen und der Fettsäurezusammensetzung sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Mit Ausnahme von Fett, Milchharnstoff und Laktosegehalt zeigte sich bei allen Parametern eine signifikante Wechselwirkung zwischen Wirtschaftsweise (Bio-Wiesmilch bzw. konventionell-gentechnikfrei) und Saison (Sommer- bzw. Winterfütterungssituation). Die Bio-Betriebe lieferten sowohl im Sommer als auch im Winter eine Milch mit geringerem Fett- und Eiweißgehalt, wobei die Differenzen zwischen den

Wirtschaftsweisen im Winter deutlicher als im Sommer ausgeprägt waren. Der Milchharnstoffgehalt war bei beiden Wirtschaftsweisen im Sommer etwas höher als im Winter, wobei in der Milch der konventionellen Betriebe im Mittel höhere Harnstoffgehalte festgestellt wurden. Auch bei allen mit der MIR-Analytik ermittelten Fettsäuregruppenkonzentrationen (UFA, MUFA, PUFA und SFA) waren die Differenzen zwischen den Wirtschaftsweisen in der Sommerfütterungssituation stärker ausgeprägt als bei Winterfütterung. Die Fettsäurezusammensetzung differierte zwischen den Saisonen (Sommer, Winter) bei biologisch wirtschaftenden deutlicher als bei den konventionellen Betrieben. Es zeigte sich bei keinem untersuchten Parameter diesbezüglich jedoch in den Faktorkombinationen (W x S) eine Effektkumkehr. Für die Milchproben der biologisch wirtschaftenden Betriebe ergaben sich sowohl bei der Sommer- als auch bei der Winterfütterungssituation signifikant geringere Konzentrationen an SFA bzw. signifikant höhere Konzentrationen an UFA als in den entsprechenden konventionellen Untergruppen. In den über die MIR-Schnellmethode ermittelten Konzentrationen an PUFA lagen die Bio-Betriebe sowohl in der Sommer- (3,5 g/100 g FA) als auch in der Winterfütterungssituation (3,3 g) über jenen der konventionellen Betriebe, welche im Mittel bei 3,2 g/100 g FA lagen. In der Sommerfütterungssituation

Tabelle 3: Milchinhaltsstoffe und Fettsäurekonzentration gemessen mit der MIR-Analyse für die biologisch bzw. konventionell wirtschaftenden Lieferbetriebe bei Sommer bzw. Winterfütterung (n=1966)

	Wirtschaftsweise (W)		Saison (S)		Saison x Wirtschaftsweise (S x W)				s _e	P-Werte		
	bio	kon	So	Wi	So bio	So kon	Wi bio	Wi kon		W	S	S x W
Fett, %	4,18	4,35	4,13	4,40	4,05 ^d	4,20 ^c	4,31 ^b	4,50 ^a	0,229	<0,001	<0,001	0,118
Eiweiß, %	3,31	3,47	3,33	3,45	3,27 ^d	3,40 ^b	3,35 ^c	3,54 ^a	0,148	<0,001	<0,001	<0,001
Laktose, %	4,84	4,86	4,87	4,83	4,86 ^b	4,88 ^a	4,83 ^c	4,84 ^c	0,062	0,004	<0,001	0,053
Harnstoff, mg/100 ml	22	24	24	22	23 ^b	26 ^a	22 ^c	23 ^b	5,410	<0,001	<0,001	0,282
SFA, g/100 g FA	66,1	67,8	65,3	68,6	64,2 ^d	66,3 ^c	68,0 ^b	69,2 ^a	2,39	<0,001	<0,001	0,002
MUFA, g/100 g FA	26,7	25,8	27,6	24,9	28,2 ^a	27,0 ^b	25,2 ^c	24,6 ^d	1,82	<0,001	<0,001	0,008
PUFA, g/100 g FA	3,4	3,2	3,4	3,2	3,5 ^a	3,2 ^c	3,3 ^b	3,2 ^d	0,30	<0,001	<0,001	0,021
UFA, g/100 g FA	33,9	32,2	34,7	31,4	35,8 ^a	33,7 ^b	32,0 ^c	30,8 ^d	2,39	<0,001	<0,001	0,002

lagen jeweils 5 % der Betriebe in der UFA-Konzentration unter 31,1 g/100 g FA, in der MUFA-Konzentration unter 24,5 g/100 g FA und in der PUFA-Konzentration unter 2,8 g/100 g FA. Würde man in der Sommerfütterungssituation bei jeder der oben angeführten Fettsäuregruppen diesen „5 %-Grenzwert“ bei den biologisch wirtschaftenden Betrieben anwenden, dann würden 7,7 % der Betriebe zumindest bei einer Fettsäuregruppe den jeweiligen Grenzwert, 3,4 % der Betriebe zumindest bei zwei Fettsäuregruppen bzw. 1,3 % der Betriebe bei allen drei FA-Gruppen (UFA, MUFA und PUFA) den jeweiligen oben angeführten Grenzwert unterschreiten.

4. Diskussion und Schlussfolgerungen

Im Fettsäuremuster wurden signifikante Unterschiede zwischen den Wirtschaftswesen (Bio-Wiesenschmelz und konventionelle gentechnikfreie Milch) und den Saisonen (Sommer- bzw. Winterfütterungssituation) festgestellt. Es zeigte sich bei den gaschromatographisch ermittelten UFA-, MUFA- und CLA-Konzentrationen eine signifikante Wechselwirkung zwischen den Haupteffekten „Wirtschaftsweise“ und „Saison“, wobei diese Wechselwirkung jedoch nicht über eine Effektkkehr in den Untergruppen zustande kam. Die Differenzen im Fettsäuregehalt zwischen der Milch der Bio-Wiesenschmelzbetriebe und jener der konventionellen Betriebe waren jedoch im Sommer stärker ausgeprägt als im Winter und der saisonal bedingte Unterschied in den Gehalten an UFA, MUFA und CLA war bei den Bio-Wiesenschmelzproben wesentlich höher als bei den konventionellen Milchproben. Unabhängig von der Güte der MIR-Fettsäureanalytik (siehe unten) zeigten sich diese Wechselwirkungseffekte auch in den MIR-Datensätzen (Feldproben bzw. Lieferbetriebsproben). Diese Unterschiede im Fettsäuremuster können vorwiegend auf die Rationsparameter zurückgeführt werden. Nach Hanuš et al. (2018) beeinflussen die Fütterung bzw. die Fettsäuregehalte der Ration das Milchfettsäuremuster mit rund 55 % am deutlichsten. Weiters können aber auch Tier- (Genetik, Laktationsstadium, Milchleistungsniveau usw.) sowie weitere Umwelteinflüsse (bspw. Höhenlage) auftreten (Kalač und Samková, 2010; Jensen, 2002; Adamska et al., 2016). Bio-Wiesenschmelzbetriebe müssen in der Bewirtschaftung und vor allem in der Fütterung besondere Richtlinien einhalten. Dazu zählt sowohl die Weideverpflichtung in der Vegetationsperiode als auch die Begrenzung von Futtermitteln aus Ackerkulturen (Getreide, Maissilage etc.). Daten von Scherzer (2019) sowie die Ergebnisse von Arbeitskreisbetrieben (BMNT, 2019) lassen auf Bio-Wiesenschmelzbetrieben im Durchschnitt einen geringeren Einsatz von Kraftfutter und

Maissilage sowie einen höheren Weide- und Grünfütteranteil in der Ration im Vergleich zu konventionellen Betrieben erwarten. Bei weide- oder grünfütterbasierter Fütterung wurden in zahlreichen Versuchen hohe UFA-, MUFA-, PUFA- und CLA- sowie geringe SFA-Konzentrationen in der Milch festgestellt (White et al., 2001; Elgersma et al., 2006; Bellof et al., 2013; Kindler et al., 2019; Scherzer et al., 2019). Mit steigenden Rationsanteilen an Kraftfutter oder Maissilage muss insbesondere mit einem Rückgang der PUFA- und CLA-Konzentrationen in der Milch gerechnet werden (Butler et al., 2008; Schulz et al., 2018). Sowohl bei den konventionellen als auch bei den biologisch wirtschaftenden Betrieben wurden signifikante Saisoneffekte (Sommer- bzw. Winterfütterung) festgestellt. Für beide Wirtschaftswesen wurden in der Sommerfütterungssituation höhere Gehalte an UFA, MUFA und CLA ermittelt. Zu den signifikanten Wechselwirkungen (Wirtschaftsweise x Saison) kam es deshalb, weil der Saisoneffekt bei den Bio-Betrieben diesbezüglich deutlicher als bei den konventionellen Betrieben ausgeprägt war. Dies ist ein Hinweis darauf, dass sich bei biologischer Wirtschaftsweise die Sommerfütterungsbedingungen deutlicher von jenen des Winters unterscheiden als auf den konventionellen Betrieben. Aber auch auf den untersuchten konventionell wirtschaftenden Betrieben muss von beachtenswerten Rationsänderungen im Jahresverlauf (z.B. Maissilageanteil im Sommer geringer; Grünfütterung bzw. Weidehaltung häufiger) ausgegangen werden (Scherzer, 2019).

Die Fettsäure-Bestimmung mittels Mid-Infrarot-Spektroskopie (MIRS) ist bei mengenmäßig dominierenden Fettsäuregruppen (z.B. UFA) und auch bei einigen individuellen Fettsäuren (z.B. C12:0; c9-C18:1) als robust und präzise einzustufen, die Genauigkeit nimmt jedoch insbesondere bei Fettsäuren bzw. FA-Gruppen ab, welche in niedrigeren Konzentrationen in der Milch vorliegen (Soyeurt et al., 2006, 2011; De Marchi et al., 2011). Entsprechend dem hohen Korrelationskoeffizienten von 0,95 stimmten die vorliegenden MIR-Analyseergebnisse hinsichtlich der Konzentrationen an ungesättigten (UFA) bzw. gesättigten Fettsäuren (SFA) mit den jeweiligen Ergebnissen der GC-Analysen sehr gut überein. Es zeigte sich jedoch eine systematische Abweichung, bei Anwendung der MIR-Analyse wurden die UFA-Konzentrationen bei allen Proben und in jedem Konzentrationsbereich in vergleichbarem Ausmaß leicht überschätzt. Auch für die MUFA-Konzentrationen zeigte sich ein hoher Korrelationskoeffizient von 0,95. Es wurden aber auch hier systematische Abweichungen zwischen den MIR- und GC-Ergebnissen festgestellt, wobei diese im niedrigeren

Konzentrationsbereich stärker als im hohen Konzentrationsbereich ausgeprägt waren. Demgegenüber zeigte sich für die in der Milch in geringeren Konzentrationen vorkommenden PUFA mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,57 nur ein moderater Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der unterschiedlichen Analysemethoden. Bei MIR-Analytik wurden bei allen Proben geringere PUFA-Konzentrationen als bei der GC-Analyse ausgewiesen. Darüber hinaus wurden auch größere Streuungen festgestellt, entsprechend der Bland-Altman-Methode wichen 95 % der MIR-Ergebnisse zwischen 9,5 % und 40,4 % negativ von den GC-Ergebnissen ab. Die vorliegenden Ergebnisse decken sich mit Literaturangaben (Soyeurt et al., 2006, 2011; Rutten et al., 2009; De Marchi et al., 2011), wonach die Genauigkeit und Robustheit der MIR-Fettsäurebestimmung bei Fettsäuren bzw. Fettsäuregruppen, die in geringeren Konzentrationen in der Milch vorkommen, derzeit noch begrenzt ist. In diesem Fall erlauben die Ergebnisse nur eine grobe Identifikation hoher und niedriger Fettsäurekonzentrationen in der Milch.

Schlussfolgerungen

Durch die Fütterung wird das Fettsäuremuster der Milch wesentlich beeinflusst. Sowohl bei konventioneller als auch biologischer Wirtschaftsweise zeigten sich signifikante Differenzen in der Fettsäurekonzentration zwischen der Sommer- und Winterfütterungssituation, wobei diese bei biologischer Wirtschaftsweise stärker als bei konventioneller ausgeprägt waren. Im Vergleich zu den konventionellen Betrieben wies die Milch der biologisch wirtschaftenden Betriebe höhere PUFA-, CLA- und ω -3-FA-Konzentrationen auf. Für beide Wirtschaftsweisen waren in den Sommermilchproben die CLA-, MUFA- und UFA-Konzentrationen höher als in den Wintermilchproben.

Über die MilkoScan FT6000 ermittelten MIR-Fettsäuregehalte kann die Konzentration an ungesättigten bzw. gesättigten Fettsäuren (UFA bzw. SFA) sowie an einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) in der Milch gut abgeschätzt werden. Die trotzdem bestehenden systematischen Abweichungen der MIR-Ergebnisse sollten über optimierte Kalibrierungen verringert werden. Die ausgewiesenen MIR-PUFA-Tankmilchergebnisse erlauben im Vergleich zur GC-Analyse auf Grund der nur moderaten Korrelation und großen Streuung, nur eine sehr grobe Identifikation hoher und niedriger PUFA-Konzentrationen in Tankmilchproben von Betrieben.

Literatur

- Adamska, A., Rutkowska, J. and W. Przybylski (2016): Comparison of fatty acid composition of milk from Simmental and Polish Holstein-Friesian cows in different production seasons. *Annals of Animal Science* 16, 1211–1225.
- Arge Biowiesenmilch (o.J.): <https://www.biowiesenmilch.at>. Besucht am 9. September 2019.
- Bellof, G., Ferber, P. und E. Schmidt (2013): Zur Fettsäurezusammensetzung der Kuhmilch in Abhängigkeit von Weidehaltung sowie konventioneller oder ökologischer Wirtschaftsweise. 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau Bonn, 504–507.
- BMNT (Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus, Hrsg) (2019): Milchproduktion 2018. Ergebnisse und Konsequenzen der Betriebszweigauswertung aus den Arbeitskreisen in Österreich. Bericht BMNT, 38 S.
- Butler, G., Nielsen, J.H., Slots, T., Seal, C., Eyre, M.D., Sanderson, R. and C. Leifert (2008): Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88, 1431–1441.
- DGF (Hrsg), (2006): Methode C-VI 11 (98) - Fettsäuremethylester (TMSH Methode). In: DGF-Einheitsmethoden: Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2. Auflage, Stuttgart.
- De Marchi, M., Penasa, M., Cecchinato, A., Mele, M., Secchiari, P. and G. Bittante (2011): Effectiveness of mid-infrared spectroscopy to predict fatty acid composition of Brown Swiss bovine milk. *Animal* 5, 1653–1658.
- De Marchi, M., Toffanin, V., Cassandro, M. and M. Penasa (2014): Invited review: Mid-infrared spectroscopy as phenotyping tool for milk traits. *Journal of Dairy Science* 97, 1171–1186.
- Elgersma, A., Tamminga, S. and G. Ellen (2006): Modifying milk composition through forage – Review. *Animal Feed Science and Technology* 131, 207–225.
- Folch, J., Lees, M. and G.H.S. Stanley (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226, 497–509.
- Grouven, U., Bender, R., Ziegler, A. und S. Lange (2007): Vergleich von Messmethoden. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 132, e69–e73.
- Hanuš, O., Samková, E., Křížová, L., Hasonová, L. and R. Kala (2018): Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability – A Review. *Molecules* 23. <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/7/1636/htm>. Besucht am 20. Juli 2018.
- Held, U., (2010): Tücken von Korrelationen: Die Korrelationskoeffizienten von Pearson und Spearman. *Swiss Medical Forum* 10, 652–653.
- Hoffmann, A., Görlich, S., Steingass, H., Terry, H., Schollenberger, M., Hartung, K. und R. Mosenthin (2016): Milk production and milk fatty acids in dairy cows fed crushed rapeseed or rapeseed oil. *Livestock Science* 190, 31–34.
- Jensen, R.G. (2002): Invited Review: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science* 85, 295–350.
- Kalač, P. and E. Samková (2010): The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech Journal of Animal Science* 55, 521–537.
- Kiendler, S., Gruber, L., Terler, G., Velik, M., Eingang, D., Schauer, A. und M. Royer (2019): Einfluss des Konservierungsverfahrens von Wiesenfutter auf Futterwert, Futteraufnahme und Milchleistung. 46. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 10–11. April 2019, Bericht HBLFA Raumberg-Gumpenstein, 97–109.
- Rutten, M.J.M., Bovenhuis, H., Hettinga, K.A., van Valenberg, H.J.F. and J.A.M. van Arendonk (2009): Predicting bovine milk fat composition using infrared spectroscopy based on milk samples collected in winter and summer. *Journal of Dairy Science* 92, 6202–6209.
- Schulz, F., Westreicher-Kristen, E., Molzentin, J., Knappstein, K. and A. Susenbeth (2018): Effect of replacing maize silage with red clover silage in the diet on milk fatty acid composition in cows. *Journal of Dairy Science* 101, 1–12.

- Soyeurt, H., Dehareng, F., Gengler, N., McParland, S., Wall, E., Berry, D.P., Coffey, M. and P. Dardenne (2011): Mid-infrared prediction of bovine milk fatty acids across multiple breeds, production systems, and countries. *Journal of Dairy Science* 94, 1657–1667.
- Scherzer, E. (2019): Einfluss der Fütterung von Kühen auf das Fettsäuremuster der Milch – Versuchs- und Praxisergebnisse. Masterarbeit Universität für Bodenkultur. 104 S.
- Scherzer, E., Steinwider, A., Starz, W., Rohrer, H., Pfister, R., Velik, M. und W. Zollitsch (2019): Einfluss von Vollweide- oder Grassilagefütterung von Kühen auf das Fettsäuremuster der Milch. *Züchtungskunde* (in Begutachtung).
- Soyeurt, H., Dardenne, P., Dehareng, F., Lognay, G., Veselko, D., Marlier, M., Bertozzi, C., Mayeres, P. and N. Gengler (2006): Estimating fatty acid content in cow milk using mid-infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science* 89, 3690–3695.
- Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates vom 28. Juni 2007 über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 (ABl. L 189 vom 20.7.2007).
- Verordnung (EG) Nr. 889/2008 der Kommission vom 5. September 2008 mit Durchführungsvorschriften zur Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen hinsichtlich der ökologischen/biologischen Produktion, Kennzeichnung und Kontrolle (ABl. L 250 vom 18.9.2008).
- White, S.L., Bertrand, J.A., Wade, M.R., Washburn, S.P., Green, J.T. and T.C. Jenkins (2001): Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science* 84, 2295–2301.