

# Afslutningsrapport

Aroma i mælk – Betydning af fodring,  
behandling og lagring af den rå mælk

Mejeribrugets ForskningsFond

Rapport nr. 2005-67

*April 2005*



**mejeri**foreningen

danish dairy board

## **Aroma i mælk - betydning af fodring, behandling og lagring af den rå mælk**

Projektet er gennemført i perioden 1. oktober 2000 – 31. december 2004

Et samarbejde mellem Danmarks JordbrugsForskning og KVL

Projektdeltagere:

Jacob Holm Nielsen, DJF  
Martin Weisbjerg, DJF  
Mona Havemose, DJF  
Magni Martens, KVL  
Lise Wolf Frandsen, KVL

Finansieret af Mejeribrugets ForskningsFond og FØTEK III Programmet

## Sammendrag

Aroma og smag har stor betydning for forbrugerens præference til mælk og dermed fremtidige valg af mælkeprodukter. Fremtidens markedskrav betinger, at mælk og mælkeprodukter skal kunne distancere sig i forhold til konkurrenternes produkter og det er derfor vigtigt at etablere ny viden om, hvilke forhold i primærproduktionen og frem til forarbejdningen, der kan påvirke aromaen af mælk og er med til at give dansk produceret mælk dens karakteristika.

I forbindelse med nærværende projekt er der udviklet nye analytiske metoder til evaluering af indholdet af aromakomponenter i mælk og der er udviklet og implementeret nye metoder til sensorisk evaluering af mælkenes smag. Der er gennemført en række forsøg, hvor man har gennemført realistiske fodringer af malkekøer og efterfølgende evalueret mælkenes sammensætning, indhold af aromakomponenter og sensoriske egenskaber. Resultaterne viser, at ændringer i fodringen af malkekøer påvirker mælkenes sammensætning i en sådan grad, at det må formodes at have afgørende betydning for mælkenes egnethed til forarbejdning såvel som mælkenes holdbarhed og smag.

Øget anvendelse af majsbaserede fodermidler har således påvirket fedtsyresammensætning såvel som reduceret indholdet af antioxidanter i mælk. Endvidere har denne mælk en væsentlig anderledes smag end mælk baseret på fodring med græsensilage. Resultaterne viser, at det er muligt at fremstille mælk med særkende både i relation til sammensætning såvel som smag. Den etablerede viden kan i fremtiden blive benyttet til at skabe nicheproduktioner af høj kvalitetsmælk.

## **Summary**

Aroma and flavour are very important for the consumer's preference for milk and thereby future choice of milk products. The future market demands stipulate that milk and milk products must be able to differentiate compared to the competing products, and therefore, it is important to establish new knowledge about the conditions in the primary production and further to the processing that can influence the aroma of milk and take part in giving Danish produced milk its characteristics.

In connection with the present project new analytical methods for evaluation of the content of aroma components in milk have been developed, and new methods for sensory evaluation of the milk flavour have been developed and implemented. A number of experiments have been carried through. The experiments include carrying through of realistic feedings of dairy cows and subsequently evaluation of the milk composition, content of aroma components and sensory attributes. The results show that changes in the feeding of dairy cows influence the milk composition to such a degree that it must be expected to have a decisive importance for the suitability of the milk for processing as well as the shelf-life and flavour of the milk.

Therefore, an increased use of maize-based feeds has influenced the fatty acid composition as well as reduced the content of antioxidants in milk, and the milk has a significantly different flavour than milk based on feeding with grass silage. The results show that it is possible to produce milk with characteristics both in relation to the milk composition as well as the flavour. In the future, the established knowledge will be used to create niche productions of high quality milk.

## Baggrund

Den rå mælks aroma påvirkes af en række faktorer som fodring, koens sundhedsstatus, mekanisk belastning og lagringsbetingelser (Nursten, 1997). Sammensætningen af malkekoens foderrationer ændres til stadighed. Således er fodersammensætningen i dag i høj grad betinget af verdensmarkedsprisen på de enkelte foderkomponenter. Samtidigt er der en tilbøjelighed til at mere arbejdskrævende foderproduktioner, fx produktion af foderroer, afløses af mindre arbejdskrævende og dermed billigere foderproduktioner. Anvendelse af foderroer til køer er derfor inden for en kort årrække blevet reduceret væsentligt og erstattet med helsædsensilage, især majshelsæd. Kraftfoderets sammensætning har ligeledes ændret sig i de sidste år således at soyaskrå, rapskager og majsprodukter i dag er de dominerende komponenter. Produkter som kokus, palme og bomuldsfrøkager, som tidligere har været betydende, er igennem de seneste 10 år blevet udfaset i forbindelse med anvendelse som foder til malkekøer. Disse ændringer i fodring kan have indflydelse på mælkenes aroma, idet fedtsyresammensætning og indhold af precursorer for aromakomponenter (fx carotenoider), der vides at omdannes til aromakomponenter under ostning, bliver ændret. Denne problemstilling har man hidtil ikke været opmærksom på, hvorfor betydningen af disse ændringer på mælkenes sammensætning og aroma ikke kendes i dag. Endvidere er det et krav i produktionen af økologisk mælk, at foderet er baseret på en stor andel af økologiske bestanddele. Kendskabet til hvorledes flere af disse økologiske foderbestanddele påvirker aromaen af økologisk mælk er heller ikke klarlagt.

Mekanisk beskadigelse af fedtkuglemembranen i mælken efter udmalkning og den deraf afledte ændring i substrattilgængelighed for enzymer er ligeledes faktorer, der har betydning for mælkearomaen og specielt dannelse af off-flavour. Ny teknologi i forbindelse med malkning, fx indførelse af robotmalkning, viser, at man allerede i dag har problemer med øget lipolyse i mælken og smagsfejl. Dette hænger sandsynligvis sammen med, at mælken udsættes for øget mekanisk belastning i disse malkesystemer, hvorved fedtkuglemembranen beskadiges så der kan pågå en øget lipolyse.

I en tid hvor der forekommer de ovennævnte radikale ændringer i primærproduktionen og management er det således vigtigt at opnå en forståelse af, hvorledes disse tiltag påvirker råvarekvaliteten. Dette er nødvendigt for at sikre at mælkenes egnethed i den videre forarbejdning til konsummælk og mejeriprodukter er optimal. Det første trin i den proces er en karakterisering af aromaudvikling og aromaprofil af den rå mælk, der kan danne grundlag for en fremtidig produktion af høj kvalitetsmælk. På længere sigt vil det også kunne bidrage til en segmentering i forskellige mælketyper med henblik på at udnytte forskellige mælketypers egnethed til forskellige mejeriprodukter (f.eks. konsummælk, mælk til ostning og andre typer af mejeriprodukter).

## Formål

At skabe en grundlæggende viden om hvilke faktorer, der har indflydelse på aromaen af den rå mælk med henblik på produktion af mælk, der tilgodeser konsumenternes og forarbejdningsindustriens krav til mælkekvalitet.

## Resultater

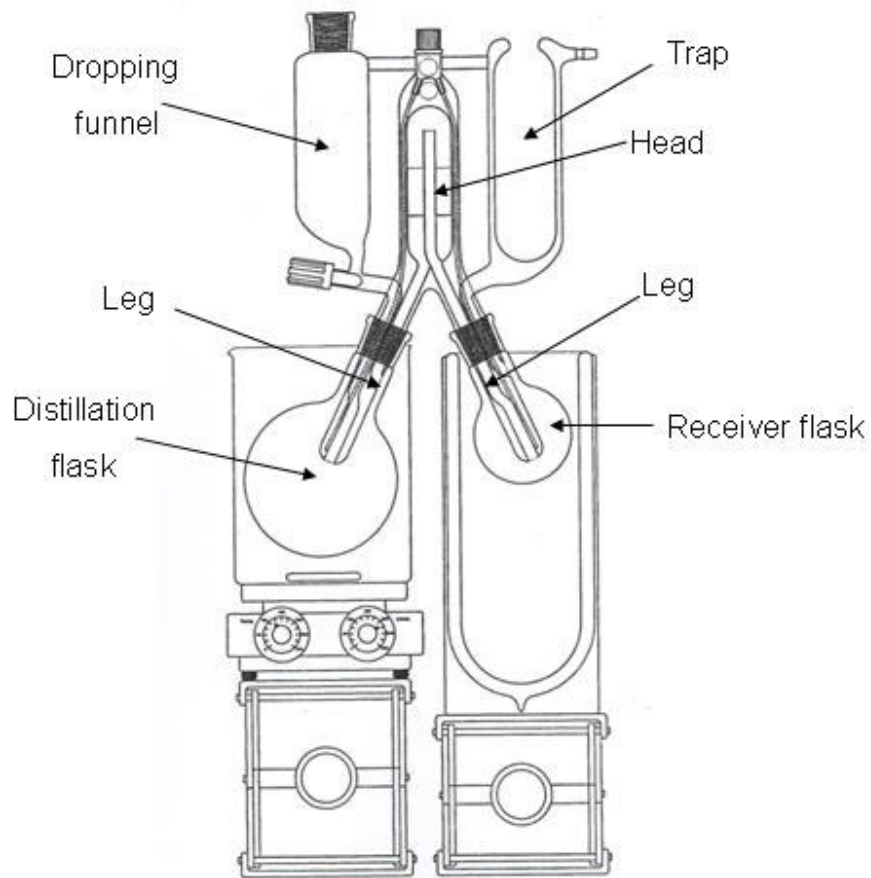
Indsatsen har være opdelt i områder

- I: Udvikling og implementering af metoder til ekstraktion, separation og detektion af aromakomponenter
- II: Udvikling og implementering af sensoriske analyser til mælk
- III: Påvirkning af mælkens sammensætning og smag gennem strategisk fodring
- IV: Betydning af fedtsyresammensætning af mælk i relation til kølingens indflydelse på mælkens smag

### **I: Udvikling og implementering af metoder til ekstraktion, separation og detektion af aromakomponenter**

#### **Solvent Assisted Flavour Extraction**

Koncentrationen af aromakomponenter i mælk er meget lav, og detektion og identificering af disse besværliggøres yderligere af, at mælk er en emulsion. En væsentlig opgave i forbindelse med projektet var udvikling af en meget følsom metode til isolering, opkoncentrering og identifikation af aromakomponenter i mælk. Metoden er baseret på høj-vakuums destillation, hvor mælk dryppes ned i et termostateret kammer med et kraftigt vakuum (ca.  $1 \times 10^{-8}$  Bar). Derved fordampes flygtige og halvflygtige aromakomponenter, der efterfølgende fortættes i en kolbe der er nedkølet med flydende nitrogen (se figur 1). Det anvendte apparatur var ved projektets start nyudviklet og er lavet af ét stykke glas og kaldes en SAFE enhed (Solvent Assisted Flavour Evaporation). De isolerede aromakomponenter ekstraheres efterfølgende over i dichlormethan og aromakomponenterne opkoncentreres på en vigreux-kolonne. De opkoncentrerede aromakomponenter separeres på gaskromatograf og komponenterne identificeres ved hjælp af massespektroskopi. Metoden har vist sin egnethed og man kan i dag identificere mere end 80 forskellige aromakomponenter i mælk.



**FIGUR 1:** Skematisk opbygning af SAFE-enhed til destillation af aromakomponenter i mælk.

Det er endvidere blevet undersøgt, hvorvidt metoden er reproducérbar. Dette er sket ved at analysere en række identiske mælkeprøver og efterfølgende kvantificere indholdet af en række typiske aromakomponenter. Preliminære forsøg viste, at der var behov for at optimere destillationsproceduren, idet man ved tildrypning af mælk ind i vakuumkammeret fik dannet en kappe af protein, fedt og andre ikke-flygtige komponenter. En del af aromakomponenterne blev tilbageholdt i denne matrix. Derfor øgede vi overfladen af destillationskolben ved hjælp af rascig ringe, hvilket betød at mælken ved tildrypning fordeles som en tynd film på rascig ringene, hvorved aromakomponenterne lettere kunne trækkes ud af mælken. Endvidere er der arbejdet meget med udvikling af ekstraktion af aromakomponenter fra det vandige destillat. En række forsøg med anvendelse af forskellige solventer til ekstraktion af aromakomponenter fra det vandige destillat viste, at der var højest genfindning af adderede standarder ved anvendelse af

dichlormethan som ekstraktionsmedium. Før analyse af de ekstraherede aromakomponenter blev det fundet nødvendigt at optimere betingelserne for opkoncentrering af aromakomponenter, således blev der etableret forsøg, der skulle tjene til at belyse om der forekom tab af aromakomponenter ved opkoncentrering under anvendelse af vigreux-kolonner. Det blev her fundet, at såfremt opkoncentreringen blev for intensiv (>800×), mistedes de mest flygtige aromakomponenter, ligesom at opkoncentreringen ikke måtte foretages ved temperaturer højere end 53 °C.

Efter optimering blev der fundet en standardafvigelse på mindre end 40% for 20 ud af 27 detekterede aromakomponenter ved gentagne ekstraktioner af mælk (se tabel 1).

**TABEL 1** Reproducerbarhed af en række aromakomponenter isoleret fra mælk ved SAFE metoden.

| Compound           | Retention time minutes | Target ion | Mean area of target ion | Standard deviation | % CV |
|--------------------|------------------------|------------|-------------------------|--------------------|------|
| 3-Carene           | 6.40                   | 121        | 1896                    | 747                | 39   |
| Limonene           | 7.98                   | 107        | 7409                    | 7005               | 95   |
| 2-Pentyl-furan     | 9.29                   | 81         | 2107                    | 1037               | 49   |
| 1-Pentanol*        | 10.04                  | 71         | 4398                    | 1720               | 39   |
| Nonanal            | 15.46                  | 95         | 7001                    | 2671               | 38   |
| 1-Heptanol         | 18.16                  | 97         | 12417                   | 6686               | 54   |
| 2-Ethyl-1-hexanol  | 19.54                  | 70         | 3266                    | 671                | 21   |
| Decanal            | 19.70                  | 95         | 571                     | 301                | 53   |
| Benzaldehyde       | 20.45                  | 105        | 2662                    | 857                | 32   |
| 1-Octanol          | 22.29                  | 69         | 7066                    | 1423               | 20   |
| 2,3-Butanediol     | 23.12                  | 73         | 1828                    | 570                | 31   |
| 1-Dodecanol        | 27.91                  | 95         | 543                     | 142                | 26   |
| Dimethylsulphone   | 34.93                  | 109        | 471751                  | 337410             | 72   |
| Benzoethiazole     | 36.11                  | 135        | 16323                   | 4749               | 29   |
| Heptanoic acid     | 36.81                  | 131        | 5101                    | 1914               | 38   |
| Phenol             | 38.47                  | 94         | 1538                    | 496                | 32   |
| Isopropylmyristate | 39.41                  | 229        | 3601                    | 1282               | 36   |
| p-Cresol           | 40.99                  | 107        | 1901                    | 751                | 40   |
| Nonanoic acid      | 43.71                  | 159        | 28912                   | 11228              | 39   |
| δ- Decalactone     | 43.98                  | 171        | 3995                    | 1183               | 30   |
| Decanoic acid      | 46.98                  | 129        | 819367                  | 175939             | 21   |
| Undecanoic acid    | 50.03                  | 129        | 4375                    | 1511               | 35   |
| δ-Dodecalactone    | 50.82                  | 199        | 802                     | 373                | 46   |
| Indol              | 51.50                  | 117        | 12491                   | 4215               | 34   |
| Benzoephenone      | 52.12                  | 182        | 11486                   | 2794               | 24   |
| Dodecanoic acid    | 53.04                  | 157        | 112009                  | 34834              | 31   |
| Vanillin           | 54.86                  | 151        | 2389                    | 897                | 38   |

Endvidere blev det undersøgt, om den nyudviklede metode kunne anvendes til at skelne to prøver fra hinanden (frisk mælk vs. oxideret mælk). Resultaterne af dette forsøg viste, at det var muligt, men der var stadig tale om relativt store standardafvigelser på målingerne.

Metoden er meget tidskrævende således tager proceduren omkring 4-5 timer per prøve eksklusiv separation og detektion af aromakomponenterne ved GC/MS. Dette bevirker, at det er meget tidskrævende at opnå et indgående kendskab til



metoden. Dette har da også betydet, at metoden først var optimeret og fandt sin endelige form i projektets år 3, hvor fodringsforsøgene var gennemført.

*Høj-vakuum destillationsmetoder til bestemmelse af aromakomponenter anvendes kun sjældent kvantitativt, den nyudviklede metoder må betragtes at være semi-kvantitativ og kan give information om flygtige og semi-flygtige komponenter i mælk, hvilket kan være betydende i relation til at kunne beskrive mælkens mangfoldige indhold af potentielle aromakomponenter.*

### **Solid Phase Micro Extraction**

Solid Phase Micro Extraction er baseret på en headspace analyse, hvor man anvender et lille fiber der kan absorbere aromakomponenter fundet i headspace over mælken. Denne metode er blevet implementeret til at analysere for meget flygtige komponenter og komponenter, der findes i høje koncentrationer i mælk. Metoden er mere reproducérbar end SAFE-metoden, og ikke så tidskrævende. Metoden har vist sin egnethed til identifikation af enkelte aromakomponenter som aldehyder og ketoner.

## **II: Udvikling og implementering af sensoriske analyser til mælk**

### **Deskriptiv sensorisk analyse**

I forbindelse med projektet blev der implementeret deskriptive analyser af mælk, hvor et sensorisk panel blev trænet til at smage på mælk. Ved træningen skulle panelet enes om terminologi for specifikke deskriptorer og intensiteten (tærskler) for disse deskriptorer. Til at evaluere de deskriptive data blev anvendt multivariate analyser.

De sensoriske profiler er søgt korreleret til forbrugertest og kemiske data, der beskriver mælkens kemiske sammensætning og indhold af aromakomponenter.

### **Autenticitetstest**

I denne modificerede autenticitetstest blev det forsøgt at øge forbrugerens følsomhed overfor smagsforskelle ved at fortælle en provokerende og opdigtet historie om nogle af produkterne. Dette kunne eksempelvis være, at produktet var produceret ved en metodik, som man på forhånd vidste at forbrugeren ikke synes om eller som i dette projekt, hvor man fortalte at noget mælk var dansk produceret mens anden mælk var udenlandsk. Da undersøgelserne blev gennemført, var der endnu ikke udenlandsk mælk på det danske marked, og forbrugeren betragtede generelt dansk mælk som et mere sikkert produkt end den udenlandske mælk. Et klart flertal af de forbrugere, der deltog i projektets undersøgelser, ville vælge dansk mælk under indkøb.

### Same-difference discrimination test

'Same-difference discrimination' testen anvendes til at undersøge, om forbrugere er i stand til at opfatte forskelle mellem produkter, når det perceptuelle aspekt ikke er kendt. Testen er en simpel analytisk test, der har vist sig at være følsom. For at få et respons sammenlignes kun to prøver ad gangen.

### Sammenligning af sensoriske metoders egnethed til at detektere små forskelle mellem forskellige mælketyper

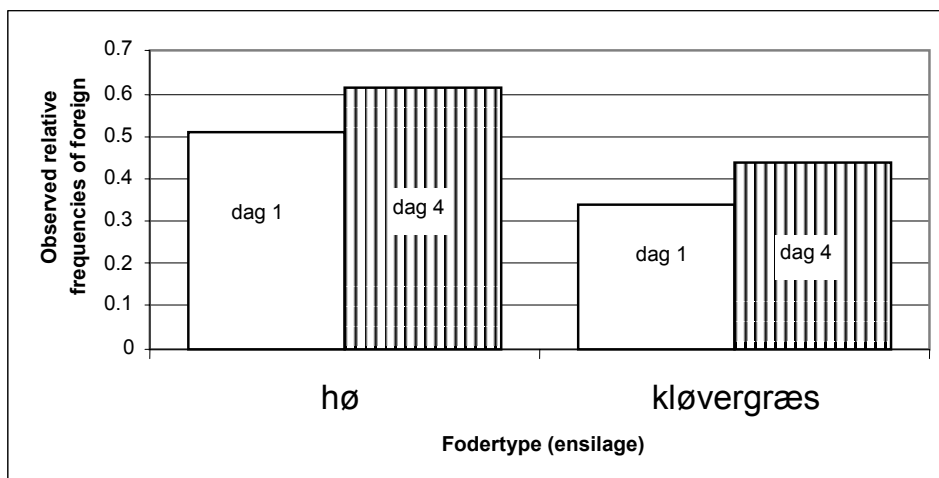
I forbindelse med projektet blev der produceret to forskellige mælketyper baseret på mælk fra køer, der havde modtaget enten kløvergræsensilage eller hø. Mælkens sammensætning adskilte sig kun i ringe grad fra hinanden (se nedenstående). Ved deskriptiv sensorik blev det fundet, at der var signifikant forskel mellem de to mælketyper med hensyn til deskriptorerne sweet/vanilla og bread/salty, der var dominerende i mælk, hvor køerne havde modtaget kløvergræs ensilage. Lagringseffekten var mere udtalt og man fandt et signifikant højere niveau af en række off-flavours (Tabel 2).

**TABEL 2:** Signifikante  $p$ -niveauer for forsøgsvariable og flavour deskriptorer ved A-PLSR

| Design variables/flavour descriptors | Fodertype<br>Kløvergræs-ensilage | Lagringsperiode<br>dag 4 |
|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| Sweet/vanilla                        | 0.031                            | <i>n.s.</i>              |
| Boiled milk                          | <i>n.s.</i>                      | 0.02                     |
| Cream                                | <i>n.s.</i>                      | <i>n.s.</i>              |
| Bread/salty                          | 0.048                            | <i>n.s.</i>              |
| Sourish                              | <i>n.s.</i>                      | 0.01                     |
| Cardboard                            | <i>n.s.</i>                      | 0.007                    |
| Plastic                              | <i>n.s.</i>                      | 0.003                    |
| Green                                | <i>n.s.</i>                      | <i>n.s.</i>              |
| Metallic taste                       | <i>n.s.</i>                      | 0.018                    |

Resultaterne fra den deskriptive analyse er i kontrast til resultaterne fra autenticitetstesten der tydeligt viste, at forbrugerne kunne differentiere mellem de to typer af mælk, mens forskelle relateret til lagring ikke var så udtalte (figur 2).

*Sammenholdt med resultater fra same-difference discrimination testen viste resultaterne, at autenticitetstesten var den mest sensitive test til at differentiere mellem produkter med marginale forskelle. Projektet har bidraget med udvikling og implementering af moderne og meget følsomme metoder til sensorisk analyse af mælk.*



**FIGUR 2:** Den relative frekvens af prøver, der blev indikeret som værende udenlandske i relation til fodring og effekt af lagringstid på dag 1 og dag 4.

### III: Påvirkning af mælkens sammensætning og smag gennem strategisk fodring

Fokus i projektet blev i høj grad lagt på at undersøge effekten af forskellige fodringsstrategier i relation til mælkens sammensætning og smag. Et af de store problemer ved ændring i fodringsstrategierne er, at det deraf producerede mælk ofte får en ændret oxidativ stabilitet, idet fodringen påvirker mælkens fedtsyresammensætning og indhold af antioxidanter. Igennem de seneste år er anvendelse af majsbaseerede produkter blevet øget væsentligt i den danske mælkeproduktion, og de fleste større konventionelle besætninger benytter således majsensilage som den væsentligste foderkilde. I den økologiske produktion er anvendelsen af majsbaseerede produkter ikke så udbredt, idet majsproduktion kræver høj gødsning og ofte også sprøjtning. Der blev derfor etableret forsøg, hvor to grupper af køer blev fodret med henholdsvis græsensilage og majsensilage hvorefter mælkens sammensætning, smag og holdbarhed blev undersøgt. Tabel 3 viser mælkens fedtsyresammensætning for de to mælketyper, mens indholdet af potentielle antioxidanter er beskrevet i tabel 4. Eksperimentet viser, at mælk fra køer der har fået græsensilage har 50% højere indhold af  $\alpha$ -,  $\gamma$ - og  $\delta$ -tocopherol ligesom indholdet af  $\beta$ -caroten, lutein og zeaxanthin er 2-6 gange højere end i mælk fra køer, der har modtaget majsensilage.

**TABEL 3:** Fedtsyresammensætning i mælk fra køer, der er fodret med henholdsvis græs- eller majsensilage.

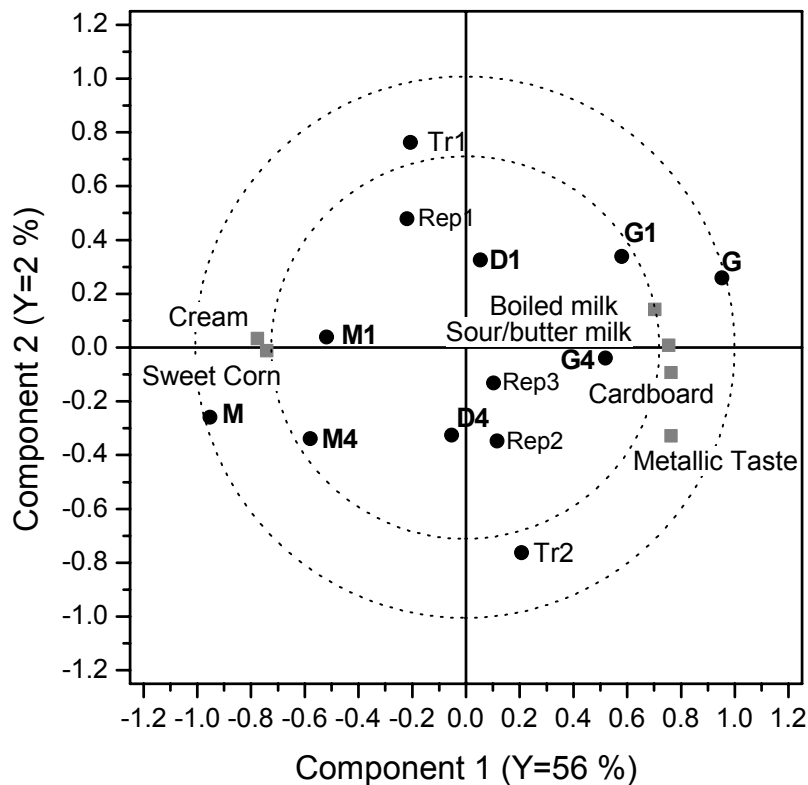
| Fedtsyre (%) | Græsensilage | Majsensilage |
|--------------|--------------|--------------|
| C4           | 4.0          | 3.8          |
| C6           | 1.9          | 1.8          |
| C8           | 1.5          | 1.3          |
| C10          | 4.0          | 3.4          |
| C12          | 5.1          | 4.2          |
| C14          | 14.0         | 13.5         |
| C16:0        | 42.4         | 40.8         |
| C16:1        | 2.3          | 2.3          |
| C18:0        | 7.6          | 8.1          |
| C18:1        | 14.8         | 18.6         |
| C18:2        | 1.9          | 2.1          |
| C18:3        | 0.7          | 0.2          |

**TABEL 4:** Potentielle antioxidanter i mælk fra køer fodret med græsensilage eller majs ensilage.

| Antioxidant µg/L | Græsensilage | Majsensilage |
|------------------|--------------|--------------|
| α-tocopherol     | 854          | 375          |
| γ-tocopherol     | 31           | 11           |
| δ-tocopherol     | 2            | 1            |
| β-caroten        | 697          | 223          |
| Lutein           | 19           | 3            |
| Zeaxanthin       | 4            | 1            |

Ved headspace analyse af flavourkomponenterne i disse mælketyper var det ikke muligt at finde signifikant forskel på mælketyperne bortset fra, at der blev fundet to azulene forbindelser i mælken fra køer fodret med majsensilage. Dette resultat formodes primært, at skyldes at SAFE-metoden ikke var færdigudviklet, da forsøget blev gennemført.

De sensoriske analyser viser derimod deres egnethed til at differentiere mellem to forskellige mælketyper, hvor køerne havde fået forskellig grovfoder. Resultaterne for den deskriptive analyse er vist ved et A-PLSR plot i figur 3 og her blev det fundet, at mælk fra køer fodret med majsensilage blev relateret til deskriptorer som 'cremethed' og 'sød majs', mens mælken fra køer fodret med græsensilage i højere grad korrelerede til deskriptorer som 'boiled milk', 'sour/buttermilk', 'cardboard flavour' og 'metallic taste'. Lagringseffekten synes ubetydelig, idet den forklarer kun 2% af gennemsnitsvariationen. Deskriptorerne for mælk fra køer fodret med græsensilage indikerer, at denne mælk er oxideret og at denne oxidation må betragtes som værende spontan oxidation, idet den forekommer fra dag 1 og ikke øges under lagringsperioden (4 dage).

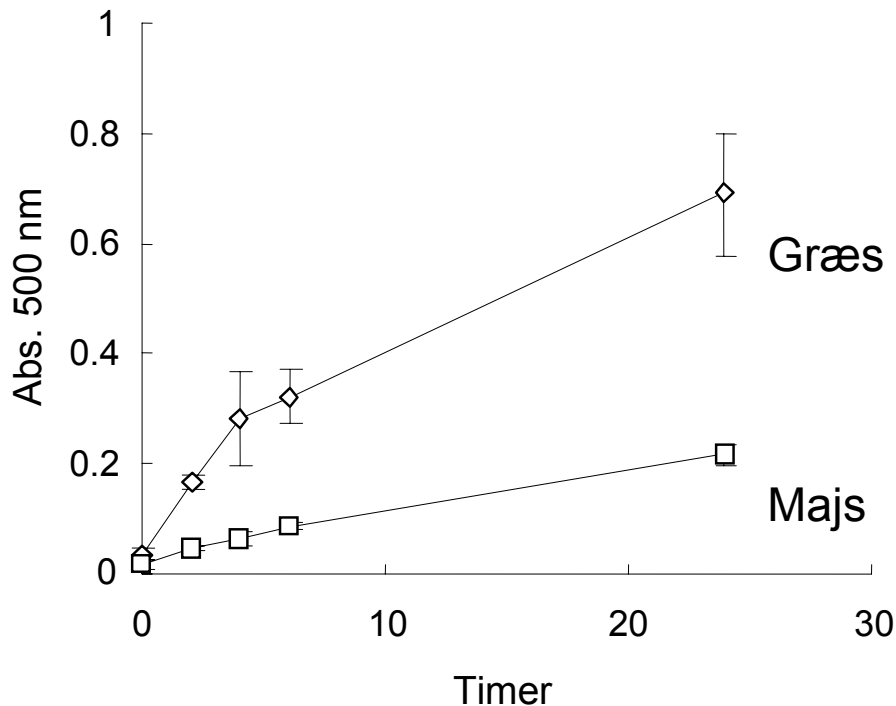


**FIGUR 3:** A-PLSR 'correlation loadings' for de to første principal komponenter for den deskriptive analyse af mælk baseret på fodring med græsensilage (G) eller majsensilage (M). Lagring D1 og D4, kombination af fodring og lagring G1, G4, M1 og M4; Gentagelser: Rep1, Rep2 og Rep3. Den indre og ydre cirkel repræsenterer 50 og 100% modelleret varians.

*Analyser har da også vist en tæt korrelation mellem disse negative deskriptorer og indholdet af flerumættede fedtsyrer i form af linolensyre, mens at det høje indhold af carotenoider og tocopheroler tilsyneladende ikke kan reducere oxidationen.*

Oxidation af de to mælketyper blev endvidere undersøgt under lagring i lys (2700 lux). Resultaterne af disse forsøg viste, at lipidet oxiderede i udtalt grad i mælk fra køer, der var fodret med græsensilage og som følgelig indeholdt et højt niveau af linolensyre mens lipidoxidation i mælk fra køer fodret med majs var mindre udtalt trods et lavt indhold af potentielle antioxidant figur 4. Trods et endog meget højt indhold af carotenoider og  $\alpha$ -tocopherol i mælk fra køer fodret med græsensilage, kunne disse potentielle antioxidant tilsyneladende ikke reducere den lysinitierede lipidoxidation. Proteinoxidation blev beskrevet ved analyse af akkumulering af dityrosin. Akkumuleringen af dityrosin synes at være identisk i de to mælketyper under den første del af lagringen i lys, hvorefter akkumuleringen steg markant i mælken fra køer fodret med majsensilage. Baggrunden for dette er sandsynligvis, at der under lagring forekom oxidation af

$\alpha$ -tocopherol og man derfor iagttog et fald i indholdet af  $\alpha$ -tocopherol.  $\alpha$ -tocopherol-indholdet i mælken fra køer fodret med majs var indledningsvis relativt lavt, og efter en vis lyspåvirkning nået til et niveau, der var så lavt, at det ikke længere kunne hindre oxidation af proteiner i denne mælketype.



**FIGUR 4:** Udvikling af lipidhydroperoxider i mælk fodret med henholdsvis græsensilage og majsensilage under lagring i lys (2700 Lux).

*$\alpha$ -tocopherol er tilsyneladende en mere effektiv antioxidant i relation til proteinoxidation end lipidoxidation i mælk. Denne viden er værdifuld, idet  $\alpha$ -tocopherol må formodes at kunne reducere oxidation af proteiner og aminosyrer der giver ophav fejlsmag i eksempelvis oste, der bliver eksponeret overfor lys.*

I et andet forsøg blev det undersøgt, hvorledes kløvergræs-ensilage influerede på mælkenes smag og sammensætning. Kløvergræsensilage anvendes især til fodring af malkekøer i den økologiske mælkeproduktion. Som kontrolproduktion af mælk blev anvendt en høbaseret fodring, idet høb er kendetegnet ved at have et lavt indhold af carotenoider. Udenlandske studier viser endvidere, at denne fodertype giver en høj kvalitetsmælk, der benyttes i produktion af høj kvalitets oste i mange lande. Indholdet af antioxidanter i mælken fra køer fodret med de to

fodertyper er naturligvis afhængig af indholdet af antioxidanter i foderet. Endvidere har tørrings- og fermenteringsforløbet indflydelse på indholdet af antioxidanter i ensilage og hø. I nærværende forsøg viste analyser af indholdet af antioxidanter i kløvergræsensilage og hø, at  $\alpha$ -tocopherol-indholdet var identisk, mens hø indeholdt tre gange så meget  $\beta$ -caroten som kløvergræsensilage, men at niveauet af  $\beta$ -caroten faldt under lagringen af foderet.

Resultaterne fra den sensoriske analyse er beskrevet under punkt III "Sammenligning af sensoriske metoders egnethed til at detektere små forskelle mellem forskellige mælketyper".

De kemiske målinger viste indledningsvis ikke forskelle mellem mælketyperne men efter lagring i 4 døgn, men der blev målt en øget akkumulering af flygtige oxidationsprodukter i mælk fra køer fodret med kløvergræsensilage. Dette formodes at være relateret til, at denne mælketype indeholder signifikant mere linolensyre end mælken fra køer fodret med hø.

#### **IV: Betydning af fedtsyresammensætning af mælk i relation til kølingens indflydelse på mælken smag**

I et andet forsøg blev det undersøgt, hvorvidt forskelle i fedtsyresammensætning påvirkede mælken smag specielt i relation til kølingsprocessen og efterfølgende lagring. Tre grupper af køer blev fodret med tre fodertyper, der skulle påvirke fedtsyresammensætningen i mælken, således at:

- mælk fra én gruppe af køer skulle have et højt indhold umættet fedt
- mælk fra en anden gruppe af køer skulle indeholde et højt niveau af kortkædede fedtsyrer (som køen selv syntetiserer)
- mælk fra en tredje gruppe af køer blev fodret med store mængder foderfedt bestående af 60% palmitinsyre og 40% oliesyre således at mælken indeholdt et højt niveau af mættede langkædede fedtsyrer (se tabel 5).

Forventningerne var, at ved nedkøling og efterfølgende lagring ville mælk fra køer, der blev fodret med umættet fedt give ophav til mælk der oxiderede, mælken fra køer der fodredes med lave fedtmængder dannede et højt niveau af stabile kortkædede fedtsyrer. Endeligt ville mælk med et højt fedtindhold bestående af store mængder mættede langkædede fedtsyrer være ansvarlig for en udkrystallisering af mælkefedtet ved høje temperaturer, hvor lipasen stadig viser aktivitet. Resultaterne af forsøget viste dog, at den sidste fodring ikke havde den ønskede effekt, idet køerne omdannede en stor del af det mættede stearinsyre til den monoumættede fedtsyre oliesyre, der har en lavere krystalliseringstemperatur.

**TABEL 5:** Fedtsyresammensætning i mælk fra køer fodret med et højt niveau af palmitinsyre eller et højt niveau af umættet lipid.

| Fedtsyre     | Mælk med højt niveau af palmitinsyre (%) | Mælk med umættet lipid (%) |
|--------------|--|----------------------------|
| <b>C4</b>    | <b>2.4</b>                               | <b>2.3</b>                 |
| <b>C6</b>    | <b>1.7</b>                               | <b>1.7</b>                 |
| <b>C8</b>    | <b>1.0</b>                               | <b>1.0</b>                 |
| <b>C10</b>   | <b>2.2</b>                               | <b>2.3</b>                 |
| <b>C12</b>   | <b>2.5</b>                               | <b>2.6</b>                 |
| <b>C14</b>   | <b>9.8</b>                               | <b>10.5</b>                |
| <b>C16</b>   | <b>43.5</b>                              | <b>26.0</b>                |
| <b>C16:1</b> | <b>2.4</b>                               | <b>1.5</b>                 |
| <b>C18:0</b> | <b>10.8</b>                              | <b>13.1</b>                |
| <b>C18:1</b> | <b>22.0</b>                              | <b>31.7</b>                |
| <b>C18:2</b> | <b>1.2</b>                               | <b>5.3</b>                 |
| <b>C18:3</b> | <b>0.4</b>                               | <b>1.9</b>                 |

Tabel 6 og 7 viser fordelingen forholdet af indholdet af aromakomponenter på dagen ved malkning og efter 3 dages lagring ved 4 °C i mælketyperne med højt indhold af umættet fedt og i mælk med højt niveau af mættet fedt. Af tabellerne ses det, at der forekommer en øgning af indholdet af oxidationsprodukter (aldehyder, ketoner og alkoholer) i den umættede mælk. Dette indikerer, at denne mælketype oxiderer hurtigere, mens der ikke forekommer nogen akkumulering i den mættede mælk med højt indhold af palmitinsyre. Samtidig forekommer der en øgning i indholdet af kortkædede frie fedtsyrer i den umættede mælk, hvilket var uventet.

**TABEL 6:** Forholdet mellem udvalgte aromakomponenter (efter 3 dages lagring og i mælk der umiddelbart er udmalket) Mælken har et højt indhold af mættet lipid.

| Komponent     | Ratio dag 3/0 (faktor) | Komponent   | Ratio dag 3/0 (faktor) |
|---------------|------------------------|-------------|------------------------|
|               |                        | Smørsyre    | 2.5                    |
| 1-octanol     | 1                      | Hexansyre   | 2                      |
| 1-octen-3-ol  | 1                      | Heptansyre  | 1                      |
|               |                        | Octansyre   | 1                      |
|               |                        | Pentansyre  | 1                      |
| Hexanal       | 1.5                    |             |                        |
| Heptanal      | 1                      |             |                        |
| Nonanal       | 1                      |             |                        |
|               |                        | 2-heptanon  | 2                      |
| Tr-2-heptenal | 2                      | 2-nonanon   | 1                      |
|               |                        | 2-undecanon | 1                      |



**TABEL 7:** Forholdet mellem udvalgte aromakomponenter (efter 3 dags lagring og i mælk der umiddelbart er udmalket). Mælken har et højt indhold af umættet lipid.

| Komponent     | Ratio dag 3/0 (faktor) | Komponent   | Ratio dag 3/0 (faktor) |
|---------------|------------------------|-------------|------------------------|
| 1-Pentanol    | 5                      | Smørsyre    | 4                      |
| 1-octanol     | 3                      | Hexansyre   | 3                      |
| 1-octen-3-ol  | 5                      | Heptansyre  | 5                      |
|               |                        | Octansyre   | 3                      |
| Pentanal      | 1                      | Pentansyre  | 5                      |
| Hexanal       | 20                     | Decansyre   | 4                      |
| Heptanal      | 4                      | Nonasyre    | 5                      |
| Nonanal       | 3                      |             |                        |
| Decanal       | 2                      | 2-heptanon  | 5                      |
| Tr-2-heptenal | 1.5                    | 2-nonanon   | 4                      |
| Tr-2-nonenal  | 3                      | 2-undecanon | 5                      |
| 2-butenal     | 1                      |             |                        |

Den deskriptive sensoriske analyse viste, at der var en signifikant ændring i intensiteten i 7 af 15 valgte deskriptorer som resultat af lagring, men kun mindre forskelle mellem mælketyper. Samtidig bør det bemærkes, at alle de signifikante identificerede deskriptorer må betegnes som off-flavours. Der var relativ stor forskel mellem de enkelte forsøgsrunder hvilket sandsynligvis skyldes forskelle i pasteuriseringsgraden af mælken. Forskellen i smagen af mælken må generelt beskrives som marginale men udfyldende hele det sensoriske rum for mælk.

Mælken blev efterfølgende serveret ved en autenticitetstest, hvor 46 forbrugere skulle smage på mælketyperne. Forbrugerne var forud for undersøgelsen blevet fortalt, at nogle af de mælkeprøver de modtog var "udenlandske". Man forventede derved at forbrugerne skærpede deres sanser (øget følsomhed) overfor off-flavours og at den udenlandske mælk ville være forbundet med mælk, der smager anderledes end den forbrugeren normalt indtager. Ved indtagelse havde mælken været lagret henholdsvis 1 døgn efter malkning eller 4 døgn. Forbrugerne kunne ikke skelne mellem de tre friske typer af mælk, men efter 4 døgn lagring var der et signifikant højere andel af umættet mælk og mælk med kortkædede fedtsyrer, der blev beskrevet som værende udenlandsk, mens mælken indeholdende højt niveau af palmitinsyre tilsyneladende ikke smagte anderledes på dag 4 i forhold til dag 1. Dette er i overensstemmelse med de kemiske analyser af flavourkomponenter som beskrevet ovenfor.

## Konklusioner

Projektet har bidraget med udvikling af meget følsomme analytiske metoder til bestemmelse af aromakomponenter i mælk baseret på Solvent Assisted Flavour Extraction. Denne metode har dog vist sig i lighed med andre vakuum destillationsmetoder kun at være semikvantitativ. Endvidere er der udviklet og implementeret meget sensitive sensoriske metoder til at differentiere mellem mælketyper. Disse metoder vurderes at have stor værdi til fremtidige sensoriske studier af mælk. Der blev i projektet kun fundet minimale sammenhænge mellem deskriptiv sensorik og analytisk-kemiske målemetoder til bestemmelse af aromakomponenter. Dette skyldes sandsynligvis, at de analytisk-kemiske målemetoder ikke var færdigudviklede førend i sidste del af projektet, men en anden væsentlig årsag er, at man sensorisk opfatter en række aromakomponenter i kombination medens de analytiske metoder kvantificerer enkeltkomponenter.

Til at differentiere mellem to mælkeprøver blev det fundet, at autenticitetstesten var den mest sensitive test til at differentiere mellem produkter med marginale forskelle.

Fodring af malkekøer med forskellige grovfodertyper viste, at dette influerede på mælkens sammensætning og smag. Såfremt at foderændringerne gik i retning af at mælken kom til at indeholde et højere niveau af umættede fedtsyrer, bevirkede det at mælkens lipider lettere oxiderede uanset om indholdet af tocopheroler og carotenoider samtidig steg. Dog synes tocopheroler at kunne reducere proteinoxidation, som er meget betydende for den fejlsmag, man observerer ved lysinitieret oxidation.

## Artikler i internationale tidsskrifter

Frandsen L. W. , Dijksterhuis G. , Brockhoff P. , Nielsen J. H. and Martens M. (2003) Subtle Differences in Milk: Comparison of an Analytical and an Affective Test *Food Quality and Preference* **14** 515-526

Frandsen, L.W., Dijksterhuis, G.B., Brockhoff, P.B., Nielsen, J.H., and Martens, M. (2004). "Feelings as a basis for discrimination between slightly different types of milk". Submitted to *Food Quality and Preference*.

Frandsen, L.W., Dijksterhuis, Martens H., and Martens, M. (2004) Consumers evaluation of milk authenticity explained both by consumer background characteristics and by product sensory descriptors. Submitted to *Appetite*

Havemose M. S., Weisbjerg M. R., Bredie W. L. P., Nielsen J. H. (2004): The influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk *International Dairy Journal* **14** 563-570

Havemose M. S., Justesen P., Bredie W, Nielsen J. H. (2005) Measurement of volatile oxidation products from milk using solvent assisted flavour evaporation and solid phase microextraction (submitted *International Dairy Journal*)

Havemose M. S., Weisbjerg M. R., Bredie W., Poulsen H. D, Nielsen J. H. (2005) Oxidative stability of cows milk influenced by fatty acids, antioxidants and copper derived from feed containing grass-clover silage or hay as roughage (submitted *International Dairy Journal*)

Havemose M. S., Bredie W, Frandsen L. W. Nielsen J. H. (2005) Sensory perception in relation to chemical composition of fresh and stored milk from cows fed grass silage or corn silage as roughage (Manuscript)

### **Faglige indlæg ved kongresser og symposier**

Mona Simoni Havemose & Jacob Holm Nielsen. Oxidative changes in milk from cows fed diets with three different fatty acid compositions. (Poster til 26<sup>th</sup> IDF World Dairy Congress, Paris)

Mona Simoni Havemose & Jacob Holm Nielsen: Direct distillation of volatile compounds in milk using a solvent assisted flavour evaporation unit.. (Poster til 26<sup>th</sup> IDF World Dairy Congress, Paris)

Lise Wolf Frandsen, Garnt B. Dijksterhuis, Per Brockhoff, Jacob Holm Nielsen: AN IMPLICIT ACCEPTABILITY TEST IN COMPARISON TO SENSORY PROFILING, *The 6th Sensometric Conference Dortmund, Tyskland*

L. W. Frandsen, G. B. Dijksterhuis,, P. B. Brockhoff, J. H. Nielsen and M. Martens.: Affective and analytical discrimination of subtle differences in milk. *Boston, USA, 20.-24. 7.2003.*

### **Populærartikler**

Jacob Holm Nielsen, Mona Havemose, Garnt Dijksterhuis og Lise Wolf Frandsen Aroma i mælk – betydning af fodring, behandling og lagring af den rå mælk. *Mælkeritidende*

### **Mødeindlæg**

Resultater fra projektet har været benyttet ved flere kurser og møder omhandlende mælkenes kvalitet.

## **Ph.D. rapporter**

Lise Wolf Frandsen (2004) Affective and analytical evaluation of subtle differences in milk, Department of Food Science, KVL

Mona Havemose (2005) The influence of feeding of the dairy cow in relation to the oxidative stability of milk, Department of Food Science, DJF

## **Bidrag til forskeruddannelse**

Der er i forbindelse med projektet uddannet to ph.d-studerende ved hhv. KVL og DJF.

## **Nationalt og internationalt samarbejde**

Projektet er gennemført som et samarbejde mellem DJF og KVL. Projektet har endvidere været medvirkende til at der er etableret samarbejde med en række udenlandske forskningsinstitutioner omkring fodringens indflydelse på mælkens smag og sammensætning. Dette drejer sig om Svensk Mjök, University of Newcastle, Institute of Grassland and Environmental Research, Wales.

## **Vurdering af projektets praktiske og videnskabelige betydning for mejeribrug**

Projektet har bidraget med vigtig viden om fodringens indflydelse på såvel mælken sensoriske kvalitet såvel som mælkens sammensætning og holdbarhed, og resultaterne har entydigt vist, at der ved ændring af fodringsstrategier er behov for at undersøge hvorledes dette påvirker mælkens kvalitet. Resultaterne har ligeledes vist, at det er muligt at udvikle mælketyper med et sensorisk særkende eller en specifik sammensætning. Med den nuværende strukturudvikling i landbruget med besætninger på op til 900 køer, hvor man vil kunne afhente >20.000 kg mælk i døgnet, åbner det mulighed for specialproduktion af mælk, hvor køerne har modtaget en specifik fodring. Derigennem kan der produceres mælk med specielle karakteristika, der kan sælges som et niche brand til en merpris eller bruges til differentieret produktion af mælkebaserede produkter.

Endvidere er dokumentationen af fodringens indflydelse på mælkens sammensætning vigtig i relation til at få en indsigt i, hvilke parametre i primærproduktionen der har indflydelse på kvaliteten af den mælk der forarbejdes. Således formodes det at fodring med store mængder majsbaseret

foder vil mindske indholdet af antioxidanter i en sådan grad, at det påvirker forarbejdede produkters holdbarhed.

### **Projektets relationer til andre/nye forskningsaktiviteter**

På baggrund af projektets resultater er DJF blevet projektdeltager i EU-projektet "Quality of Low Input Food", hvor viden fra nærværende projekt anvendes til at evaluere fodringens indflydelse på mælkens kvalitet i mælk fra en række europæiske lande. Endvidere danner nærværende resultater baggrund for ansøgningen "Organic Milk of High Quality – Development of Production Concepts Based on grazing of the Dairy Cows and Gentle Treatment of the Milk during Handling and Processing" der har fokus på at udvikle højkvalitetsmælk med et sensorisk særkende.

### **Referencer:**

Nursten, H. E. (1997). The flavour of milk and dairy products. I. Milk of different kinds, milk powder, butter and cream. *International Journal of Dairy Technology* **50**(2): 48-56

Ye X. & Yoshida S. (1995) Lactoperoxidase and lactoferrin: changes in post partum milk during bovien lactational disorders. *Milchwissenschaft* **50** 67-71

