Jaarrond gemiddeld fosforgehalte in melk

Jaarrond monitoren van het P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel en de mogelijkheid het P-gehalte in melk te schatten uit andere melkbestanddelen

Lisanne Koning en Léon Šebek

RAPPORT 1166

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Jaarrond gemiddeld fosforgehalte in melk

Jaarrond monitoren van het P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel en de mogelijkheid het P-gehalte in melk te schatten uit andere melkbestanddelen

Auteurs:

Lisanne Koning¹

Léon Šebek¹

Reviewer:

Jan Dijkstra²

1 Wageningen Livestock Research

2 Wageningen University, Departement Diervoeding

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Livestock Research, in opdracht van en gefinancierd door het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoek thema Mest en Milieu, BO-20-004-136, project KD-2017-121: Actualisatie van fosforgehalte in melk

Wageningen Livestock Research

Wageningen, april 2019

Rapport 1166

Koning, L., L.B. Šebek, 2019. *Jaarrond gemiddeld fosforgehalte in melk; Jaarrond monitoren van het P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel en de mogelijkheid het P-gehalte in melk te schatten uit andere melkbestanddelen*. Wageningen Livestock Research, Rapport 1166.

Samenvatting

De Nederlandse melkveehouderij heeft moeite om onder het afgesproken fosfaatexcretieplafond te blijven. De fosfor(P)-excretie via mest van melkvee wordt berekend door de P in melk en P gebruikt voor groei af te trekken van P opgenomen via het voer. De P-vastlegging in melkvee bestaat voor ongeveer 95% uit P in melk en daarmee is het gebruik van een juist P-gehalte voor melk essentieel in de berekening van de P-excretie. In dit onderzoek is het jaarrond gemiddelde P-gehalte in de melk van de Nederlandse melkveestapel geanalyseerd. Daarnaast zijn er modellen onderzocht om P in melk te schatten op basis van melkbestanddelen die mogelijk via mid-infrared (MIR) analyse bepaald kunnen worden. Het jaarrond gemiddelde P-gehalte in de melk van de Nederlandse melkveestapel is 101,2 mg P/100 g rauwe melk, dat is 4,3% hoger dan het vaste aangenomen P-gehalte in de excretieforfaits van 97 mg P/100 g rauwe melk. Dit zou de fosfaatexcretie via mest met circa 1,0 tot 1,4 miljoen kg per jaar verminderen. Het P-gehalte in melk kan geschat worden met een model wanneer het calcium- en zinkgehalte bekend is. Het model $P_{melk} (mg/100 g) = 2,40 + 0,46 * calcium (mg/100 g) + 97,80 * zink (mg/100 g)$ verklaart voor 73,8% de geobserveerde variantie in P. Een model met enkel calcium verklaart voor 66,7% de geobserveerde variantie in P.

Abstract

The Dutch dairy sector has difficulty staying below the European maximum of phosphate excretion by cattle. Phosphorus (P) excretion is calculated by subtracting P in milk and P used for growth from P intake via feed. P in milk accounts for approximately 95% of the total P used by cows, thus an accurate estimation for P in milk is necessary for a reliable calculation of P excretion. In this research the average P-content in Dutch dairy milk was studied. Next, models were investigated to estimate P in milk based on milk components that could be analysed using mid-infrared (MIR). The annual average P-content in Dutch dairy milk was 101.2 mg P/100 g raw milk, which is 4.3% higher than the fixed value of P in milk used to calculate P excretion, which is 97 mg P/100 g milk. This means a decrease in annual phosphate excretion by the Dutch dairy sector of 1.0 to 1.4 million kg. The P content in milk can be estimated using a model with calcium and zinc. The model $P_{milk} (mg/100 g) = 2.40 + 0.46 * calcium (mg/100 g) + 97.80 * zinc (mg/100 g)$ explains 73.8% of the observed variation in P. A model with only calcium explains 66.7% of the observed variation in P.

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/476560> of op www.wur.nl/livestock-research (onder Wageningen Livestock Research publicaties).

© 2019 Wageningen Livestock Research

Postbus 338, 6700 AH Wageningen, T 0317 48 39 53, E info.livestockresearch@wur.nl, <http://www.wur.nl/livestock-research>. Wageningen Livestock Research is onderdeel van Wageningen University & Research.

Wageningen Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van de uitgever of auteur.

Wageningen Livestock Research is NEN-EN-ISO 9001:2015 gecertificeerd.

Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Inhoud

	Woord vooraf	5
	Samenvatting	7
1	Inleiding	9
2	Werkwijze	11
	2.1 Aanpak	11
	2.2 Procedure verzamelen melkmonsters	11
	2.3 Analyse melkmonsters	12
	2.4 Statistische analyse	12
3	Resultaten	14
	3.1 P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel	14
	3.1.1 Implicaties	15
	3.2 Schatten van P in melk	15
	3.2.1 Beste modellen als schatter voor P in melk	15
	3.2.2 Modellen op basis van theorie	17
	3.2.3 Modellen op basis van praktische toepasbaarheid	19
4	Discussie en conclusies	21
	Literatuur	23
	Bijlage 1 Geanalyseerde variabelen in de rauwe melk	24
	Bijlage 2 Geanalyseerde vetzuren in de rauwe melk	25

Woord vooraf

Voor u ligt het rapport 'Jaarrond gemiddeld fosforgehalte in melk: Jaarrond monitoren van het P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel en de mogelijkheid het P-gehalte in melk te schatten uit andere melkbestanddelen'. Het rapport geeft weer hoe gedurende een volledig jaar wekelijks representatieve monsters van de melk van de Nederlandse melkveestapel zijn verzameld. De weekmonsters zijn niet alleen geanalyseerd op het P-gehalte maar ook op andere componenten van de melksamenstelling (droge stof, vet, eiwit, lactose, ureum, caseïne, niet-eiwit stikstof, vriespunt, het vetzuurpatroon en diverse mineralen). De data zijn gebruikt om:

- Het gemiddelde P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel te bepalen;
- Te onderzoeken of het P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel geschat kan worden uit andere melkbestanddelen.

Het zoeken naar een model om het P-gehalte te schatten uit andere melkbestanddelen was bedoeld om een goedkoop alternatief te hebben voor het jaarrond analyseren van het P-gehalte in melk. Inmiddels heeft de ontwikkeling van een routinematige bepaling van het P-gehalte in melk via MIR analyses de vraag naar een schattingsmodel voor P in melk achterhaald.

Het onderzoek is financieel mogelijk gemaakt door het Ministerie van Landbouw Natuur en Voedselkwaliteit, vanuit het Beleidsondersteunend onderzoek thema Mest en Milieu

Dr. Ir. G. (Gert) van Duinkerken
Afdelingshoofd Diervoeding

Samenvatting

Nederland heeft moeite met het internationaal afgesproken fosfaatexcretieplafond. Voor melkvee wordt de fosfor(P)-excretie via mest met een balansberekening vastgesteld:

$$P_{\text{excretie}} (g/dag) = P_{\text{in opgenomen voer}} (g/dag) - P_{\text{in melk}} (g/dag) - P_{\text{in groei}} (g/dag)^1$$

¹ De P-groei betreft de hoeveelheid P die gebruikt wordt door de koe voor groei en onderhoud.

De P-vastlegging in melkvee bestaat voor ongeveer 95% uit P in melk en daarmee is het gebruik van een juist P-gehalte voor melk essentieel in de berekening van de P-excretie. Recent onderzoek heeft laten zien dat de hoeveelheid P in de melk hoger zou kunnen zijn dan tot nu toe werd aangenomen. Een hoger P-gehalte in melk zou de P-excretie verlagen. Daarnaast is het bepalen van P in melk duur, omdat dit (nog) niet gebeurt door middel van mid-infrarood (MIR) analyse, zoals gedaan wordt voor bijvoorbeeld het vet-, eiwit- en lactosegehalte. Dit maakt het interessant te onderzoeken of P te schatten is op basis van melkbestanddelen die wel via MIR analyse bepaald kunnen worden. Voor dit rapport zijn de volgende 2 doelen geformuleerd:

1. Het vaststellen van het actuele jaargemiddelde P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel.
2. Het onderzoeken van een schattingsmodel voor het P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel.

In dit rapport is jaarrond het P-gehalte in wekelijks genomen melkmonsters die representatief zijn voor de Nederlandse veestapel geanalyseerd, om tot een gemiddeld jaarrond P-gehalte in melk te komen en deze te vergelijken met het forfait. Daarnaast zijn ook andere bestanddelen in melk (o.a. vet, eiwit, lactose, vetzuren en verschillende mineralen) geanalyseerd, om te onderzoeken of het mogelijk is het P-gehalte in melk te schatten op basis van andere melkbestanddelen. De belangrijkste conclusies van het onderzoek zijn:

1. Het jaarrond gemiddeld P-gehalte in melk is 4,3% hoger dan het huidige forfait. Het jaarrond gemiddelde P-gehalte in de melk van de Nederlandse melkveestapel is 1,012 g P/ kg rauwe melk, terwijl het vaste aangenomen P-gehalte in de excretieforfaits 0,97 g P/ kg rauwe melk is. Wanneer de excretie niet met 0,97 g P/kg melk maar met 1,012 g P/kg melk wordt berekend, zal de fosfaatexcretie in mest van melkvee met circa 1,0 tot 1,4 miljoen kg per jaar verminderen.
2. Het P-gehalte in melk kan voorspeld worden uit andere melkbestanddelen. Het beste model met biologische verklaarbaarheid bevat de variabelen calcium en zink, verklaart voor 73,8% de geobserveerde variantie in P en ziet er als volgt uit:

$$P_{\text{melk}}(mg/100g) = 2,40 + 0,46 * \text{calcium}(mg/100g) + 97,80 * \text{zink}(mg/100g)$$

3. Het beste enkelvoudige model bevat de variabele calcium en verklaart voor 66,7% de geobserveerde variantie in P

$$P_{\text{melk}}(mg/100g) = 7,66 + 0,75 * \text{calcium}(mg/100g)$$

Sinds kort bepalen alle leden van Nederlandse Zuivel Organisatie (NZO) het P-gehalte in iedere levering tankmelk met behulp van MIR analyse. NZO is de branchevereniging van de zuivelsector met 13 zuivelbedrijven als lid. Deze bedrijven zijn goed voor 98% van de zuivelproductie in Nederland. Op basis van deze (nieuwe) gegevens van NZO manier kan de ontwikkeling van het P-gehalte in de melk van de Nederlandse melkveestapel eenvoudig en betrouwbaar gevolgd worden.

1 Inleiding

Fosfor (P) is een belangrijk macromineraal met verscheidene functies in zowel dier, plant als mens. P speelt bijvoorbeeld een belangrijke rol in celmembranen (fosfolipiden), DNA en in botten (calciumfosfaat), maar dient ook als buffer in bloed, is een onderdeel van het caseïne eiwit en is een belangrijk element in verschillende metabole processen (eiwit fosforylering, energie transmissie). Het is daarmee belangrijk dat de Nederlandse veestapel van voldoende P wordt voorzien. Echter, niet alle P kan door het dier benut worden en het surplus wordt via mest uitgescheiden. Een (te) grote hoeveelheid geproduceerde mest kan tot fosfaatoverschotten in grond- en oppervlaktewater leiden met een negatief effect op milieukwaliteit. Om de milieukwaliteit te waarborgen zijn binnen de EU excretieplafonds voor fosfaat afgesproken.

Nederland heeft moeite om te voldoen aan het internationaal afgesproken fosfaatexcretieplafond. In de jaren 2008, 2009, 2010, 2015 en 2016 werd het EU fosfaatexcretieplafond door de Nederlandse veehouderij overschreden (figuur 1).

Figuur 1 Fosfaatexcretie (in miljoenen kg fosfaat) van de Nederlandse veestapel, voor zowel melk- en fokvee (blauwe staven) als alle overige dieren (groene staven), inclusief het fosfaatexcretieplafond voor melk- en fokvee (oranje lijn) en het totale fosfaatexcretieplafond (grijze lijn). (Wageningen University & Research, 2015).

Voor melkvee wordt de P-excretie via mest met een balansberekening vastgesteld:

$$P_{\text{excretie}} = P_{\text{in opgenomen voer}} - P_{\text{in melk}} - P_{\text{in groei}}$$

Voor de forfaitaire koe bestaat de P-vastlegging voor ongeveer 95%¹ uit P in melk en daarmee is het gebruik van een juist P-gehalte voor melk essentieel in de berekening van de P-excretie van de melkkoe. Een in 2016 uitgevoerde steekproef door NZO (persoonlijke mededeling) liet zien dat de

¹ De forfaitaire Nederlandse melkkoe geeft per jaar 8048 kg melk (P-gehalte van 0,97 g/kg) en per jaar worden 0,3625 koeien door vaarzen vervangen en worden 0,65 kalveren geboren. De vaarzen groeien $0,3625 \times 70 = 25,4$ kg (P-gehalte van 7,4 g/kg) en de kalveren $0,65 \times 44 = 28,6$ kg (P-gehalte van 8,0 g/kg). Daarmee is voor de forfaitaire koe de vastlegging per jaar 7,81 kg P in melk en 0,42 kg P in groei.

hoeveelheid P in de melk hoger zou kunnen zijn dan de bij de excretieforfaits aangenomen 0,97 g P/kg melk, omgerekend 97 mg P/100 g melk. Deze steekproef wordt bevestigd door het onderzoek van Klop en collega's (2014), waar relaties zijn gevonden tussen vet- en eiwitgehalten in de melk en het P-gehalte in de melk. Er werd door dezelfde auteurs in 2013 een P-gehalte van 0,9 g/kg melk gevonden, maar met vet- en eiwitgehalten die 10% lager lagen dan de dataset van de studie in 2014, waar een P-gehalte van 1,0 g/kg melk werd gevonden (Klop *et al.*, 2014). Deze studie laat zien dat het gemiddelde P-gehalte kan verschillen over de tijd, waardoor een schattingsmodel betrouwbaarder is dan een constante waarde. Een hoger P-gehalte in melk zou de P-excretie verlagen², wat reden is hier nader onderzoek naar te doen. Daarnaast is het bepalen van P in melk duur, omdat P nog niet wordt gemeten door middel van mid-infrarood (MIR) analyse, zoals gebeurt voor bijvoorbeeld het vet-, eiwit- en lactosegehalte. Dit maakt het interessant te onderzoeken of P te schatten is op basis van melkbestanddelen die wel via MIR analyse bepaald kunnen worden. Voor dit rapport zijn de volgende 2 doelen geformuleerd:

1. Stel het actuele jaargemiddelde fosforgehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel vast.
2. Onderzoek mogelijkheden voor een schattingsmodel voor het P-gehalte in melk van de Nederlandse rundveestapel.

In dit rapport wordt het uitgevoerde onderzoek en de resultaten daarvan beschreven. Hoofdstuk 2 beschrijft de werkwijze; de representativiteit van de melkmonsters, vaststellen van het jaarrond P-gehalte in melk, karakteriseren van de melksamenstelling en het genereren van een schattingsmodel. Hoofdstuk 3 geeft de resultaten van het onderzoek, waarbij hoofdstuk 3.1 het jaarrond gemiddeld P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel beschrijft en hoofdstuk 3.2 de resultaten van het onderzoek naar een schattingsformule voor het P-gehalte in melk op basis van andere melkbestanddelen. Hoofdstuk 4 sluit af met discussie, implicaties en conclusies.

² Per 1 miljard kg geproduceerde melk betekent een 5% hoger P-gehalte in melk (=0,05 g P/kg melk) een vermindering van de fosfaatexcretie met 0,105 miljoen kg per jaar.

2 Werkwijze

2.1 Aanpak

Het vaststellen van het actuele (2017/2018) P-gehalte in de gemiddelde melk van de Nederlandse veestapel is uitgevoerd door het jaarrond analyseren van het P-gehalte in wekelijks genomen melkmonsters die representatief zijn voor de melk van de Nederlandse veestapel. In de melkmonsters zijn naast analyse van het P-gehalte tevens andere componenten van de melksamenstelling geanalyseerd (droge stof, vet, eiwit, lactose, ureum, caseïne, niet-eiwit stikstof, vriespunt, vetzuurpatroon en diverse mineralen). De zo verkregen dataset is niet alleen gebruikt om het jaargemiddelde P-gehalte in melk vast te stellen, maar ook om te onderzoeken of het P-gehalte in melk geschat kon worden uit andere componenten in melk.

2.2 Procedure verzamelen melkmonsters

Wekelijks werd bij maximaal 14 productielocaties van 7 zuivelondernemingen verspreid door Nederland rauwe melk opgehaald. Het volume opgehaalde melk per locatie verschilde, maar was iedere keer gelijk (tabel 1). Er was geen relatie tussen de hoeveelheid verwerkte melk en het opgehaalde volume van het monster, waardoor er geen gewogen monster werd genomen of een gewogen gemiddelde uit de monsters kon worden berekend. Echter, iedere productielocatie verwerkte de melk uit een groot gebied die op zich een gemiddelde Nederlandse melk zou kunnen zijn.

Tabel 1 Het volume opgehaalde rauwe melk per productielocatie.

Productielocatie	Opgehaalde rauwe melk (L)
1	80
2	40
3	40
4	40
5	60
6	40
7	60
8	40
9	80
10	60
11	Minimaal 80
12	60
13	60
14	40
Totaal	780

Bij ontvangst in het geaccrediteerde Qlip laboratorium werd iedere partij per locatie visueel en op samenstelling (vet-, eiwit- en lactosegehaltes en celgetal) gecontroleerd. Steekproefsgewijs werd een partij ook op microbiologisch kiemgetal gecontroleerd. De rauwe melk van de locaties die voldeden aan de ingangscontrole werd gemengd en geconserveerd met 0,03 % natriumazide met eosine als kleurstof. De samenstelling van het referentiemonster rauwe melk kon elke week wisselen omdat:

- niet elke locatie iedere week de mogelijkheid had om te leveren;
- een partij van een locatie niet aan de ingangscontrole voldeed;
- circa 250 liter rauwe melk van de partijen met een hoger celgetal apart werd gehouden voor de bereiding van het referentiemonster celgetal;
- circa 60 liter rauwe melk van minimaal 1 partij met een laag kiemgetal apart werd gehouden voor het referentiemonster kiemgetal;
- in sommige weken de afname van het referentiemonsters rauwe melk hoger was en dan levert 1 locatie 20 tot 100 liter extra.

Gemiddeld bestond het referentiemonster rauwe melk uit totaal 500 liter melk van 10 locaties. Indien om welke reden dan ook het referentiemonster incidenteel niet voldeed, dan werd deze opnieuw bereid. In dat geval bestond het referentiemonster rauwe melk uit 500 liter van 1 of 2 locaties. Dit was dan ten opzichte van de gebruikelijke procedure anders. Gezien de melk dan minder representatief kon zijn voor Nederlands gemiddelde rauwe melk, werd dit vastgelegd binnen Qlip en doorgegeven aan de onderzoeker. Die kon dit dan gebruiken bij de beoordeling en verwerking van de geanalyseerde melksamenstelling.

2.3 Analyse melkmonsters

Het P-gehalte van de melkmonsters is geanalyseerd door het Qlip laboratorium met behulp van een inductief gekoppelde plasmamassaspectrometer (ICP-MS). Bij ICP-MS wordt P gemeten op basis van een emissielijn van P bij 8000 K en gedetecteerd op basis van de massa. Naast het P-gehalte zijn er tevens andere componenten van de melksamenstelling geanalyseerd: droge stof, vet, eiwit, lactose, ureum, caseïne, niet-eiwit stikstof, vriespunt, het vetzuurpatroon en diverse mineralen. De analysemethode van elk van deze componenten staat in tabel 2. De dataset is vervolgens gebruikt om het gemiddelde P-gehalte in de Nederlandse melk te bepalen en om een schattingsformule voor het P-gehalte te onderzoeken.

Tabel 2 Analysemethode per melkcomponent, uitgevoerd door Qlip.

Component	Analysemethode	Opmerking
Mineralen: Fosfor, natrium, kalium, calcium, zink, koper, ijzer, mangaan, magnesium	Inductief gekoppelde plasmamassaspectrometer (ICP – MS)	Eigen methode, voor het bepalen van gehalten van verschillende elementen
Vet	Röse-Gottlieb (RG) gravimetrie	Referentiemethode, conform NEN-EN-ISO 1211
Eiwit	Kjeldahl titrimetrie	Bepalen van het gehalte aan stikstof en berekening van het eiwitgehalte, conform NEN-EN-ISO 8968-1
Lactose	Vloeistofchromatografie (HPLC) refractie index	Eigen methode
Droge stof	Droogstoofmethode	Referentiemethode, conform ISO 6731
Ureum	Enzymatische pH-verschilmethode	Referentiemethode, conform NEN-EN-ISO 14637
Vetzuursamenstelling	GC-vlamionisatiedetector (GC-FID)	Conform NEN-ISO 15885

2.4 Statistische analyse

Voor het onderzoek naar een schattingsmodel voor P in melk uit andere melkbestanddelen is een regressieanalyse gebruikt. Daarbij is gebruik gemaakt van een all subset analyse, omdat daarmee alle mogelijke modellen op basis van de 77 geanalyseerde melkbestanddelen worden onderzocht. Op die manier wordt inzicht verkregen in het wel of niet bestaan van onderlinge relaties tussen de geanalyseerde melkbestanddelen. Vervolgens is gekeken of de gevonden relaties ook een theoretische dan wel fysiologische onderbouwing hebben.

Voor de regressieanalyse zijn de 52 referentiemonsters (van week 14 2017 t/m week 13 2018) gebruikt waarvan de volledige melksamenstelling is bepaald. Hierbij is fosfor (P) als de afhankelijke variabele gekozen, waarvan het gehalte geschat moest worden op basis van het gehalte van de andere melkbestanddelen (de onafhankelijke variabelen), volgens het model:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_{1i} + \dots + \beta_K x_{Ki} + \varepsilon_i$$

Met y_i als P in melk, x_i andere melkbestanddelen, $K=77$ variabelen en $i=52$ weken (β_0 is de intercept en β_K is de regressiefactor).

Genstat 19th Edition is gebruikt voor deze analyse. In totaal zijn er 77 onafhankelijke variabelen gebruikt (zie bijlage 1 en 2) om het beste model te vinden op basis van een zo hoog mogelijke verklaarde variantie (R_{adj}^2) en weinig multicollineariteit (*Variance Inflation Factor*, VIF). All subset regressies zijn uitgevoerd om het model te vinden met de beste fit, gevolgd door enkelvoudige en meervoudige regressies. Uitschieters zijn globaal onderzocht op basis van de *Principle Component Analysis* (PCA) loading plot en de vulcano plot (verkregen via MetaboAnalyst³) en na de regressieanalyse is van de best gevonden modellen de *Mahalanobis* afstand (M, een maat voor hoeveel standaard deviaties (SD) een observatie van het gemiddelde afzit) berekend. Met behulp van de M worden uitschieters herkend door de waarden te vergelijken met de *chi-square* verdeling volgens model:

$$M_{\vec{x}} = \sqrt{(\vec{x} - \vec{\mu})^T S^{-1} (\vec{x} - \vec{\mu})}$$

$$p - \text{waarde } M_{\vec{x}} = 1 - \text{cdf.chisq}(M_{\vec{x}}, df)$$

Met observatie $\vec{x} = (x_1, x_2, x_3, \dots, x_N)^T$ van een set observaties met gemiddelde $\vec{\mu} = (\mu_1, \mu_2, \mu_3, \dots, \mu_N)^T$ met N=52 weken en covariantie matrix S. De p-waarde van M wordt berekend door de waarde van M te vergelijken met de *chi-square* verdeling met hetzelfde aantal *degrees of freedom* (df), met een significantiewaarde van $p < 0,001$ (drempelwaarde van 0,001 wordt aangehouden voor uitschieters op advies van het onderzoek van Tabachnick & Fidell, 2007). Uitschieters worden onderzocht om de representativiteit van de monsters (zie hoofdstuk 2.2) te waarborgen. Ten slotte zijn er enkele Pearson correlaties gedaan om verbanden tussen variabelen te controleren. Het model, met σ_X als SD van variabele (of model) X en σ_Y als SD van variabele (of model) Y (cov=covariantie), is:

$$\rho_{X,Y} = (\text{cov}(X,Y)) / (\sigma_X \sigma_Y)$$

Naast Pearson correlaties is er gebruik gemaakt van de *Variance Inflation Factor* (VIF), een maat om multicollineariteit tussen variabelen te onderzoeken:

$$VIF_i = 1 / (1 - R_i^2)$$

Met VIF_i de VIF per onafhankelijke variabele en R_i^2 de verklaarde variantie van het model met die variabele. De drempelwaarde voor VIF gebruikt in dit rapport is 3 (op advies van Hair *et al.*, 2018), VIF waarden hoger dan 3 wijzen op multicollineariteit.

³ <http://www.metaboanalyst.ca/>

3 Resultaten

3.1 P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel

Voor deze studie is gebruik gemaakt van 52 referentiemonsters (zie paragraaf 2.2) die genomen zijn van week 14 in 2017 tot en met week 13 in 2018. Zie tabel 3 voor de geanalyseerde gehalten van de melksamenstelling (gemiddelde, standaard deviatie, minimum en maximum waarde van de belangrijkste variabelen, zie bijlage 1 en 2 voor de volledige lijst van geanalyseerde variabelen, waaronder mineralen en vetzuren).

Tabel 3 Geanalyseerde gehalten van de basissamenstelling en P in de wekelijkse melkmonsters, zie bijlage 1 en 2 voor de volledige lijst van geanalyseerde variabelen.

Variabele	Gemiddelde	Standaard deviatie (SD)	Minimum	Maximum
Fosfor (mg/100 g)	101,2	3,56	92,8	109,6
Vet (% m/m ¹)	4,34	0,14	4,08	4,60
Eiwit (% m/m)	3,56	0,08	3,41	3,70
Lactose (% m/m)	4,51	0,02	4,47	4,55
Droge stof (% m/m)	13,37	0,22	12,94	13,71
Ureum (mg/100 g)	22	1,22	20	25

1 % m/m is de massafractie van de component, berekend door de massa van de component te delen door de totale massa, uitgedrukt in percentages.

Uit tabel 3 blijkt dat de gemiddelde gemeten P in melk 101,2 mg P per 100 g rauwe melk was, met een minimum van 92,8 mg/100 g en een maximum van 109,6 mg/100 g. In figuur 2 is het verloop van het jaarrond P-gehalte per maand te zien. Zichtbaar is dat het P-gehalte in melk in de zomermaanden lager is dan in de wintermaanden.

Figuur 2 Jaarrond P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel 2017-2018.

3.1.1 Implicaties

In de excretieforfaits is een vast P-gehalte in melk aangenomen van (omgerekend) 97 mg P/100 g melk. Het actuele P-gehalte in de melk van de Nederlandse melkveestapel is gemiddeld 101,2 mg P/100 g melk, dat is 4,3% hoger dan het aangenomen P-gehalte waarmee de excretieforfaits zijn berekend. Wanneer de fosfaatexcretie in mest van melkvee wordt uitgerekend op basis van 101,2 mg P/100 g melk in plaats van 97 mg P/100 g melk, dan wordt de fosfaatexcretie met circa 1,0 tot 1,4 miljoen kg per jaar verminderd (tabel 4). Omdat de fosfaatexcretie van zowel de Nederlandse veestapel als de Nederlandse melkveestapel zich beweegt rond het fosfaatexcretieplafond (zie figuur 1), kan een verschil van 1,4 miljoen kg P per jaar bepalend zijn voor het wel of niet overschrijden van het excretieplafond.

Tabel 4 Impact van de verhoging van het P-gehalte in melk met 4,2 mg/100 g op de berekende nationale P- en fosfaatexcretie door melkvee vanaf het jaar 2000 (Bron melkproductie: CBS, 2018).

Jaar	Nationale melkproductie (miljard kg/jaar)	P-melk=97 mg/100 g (kg P in melk/jaar)	P-melk=101,2 mg/100 g (kg P in melk/jaar)	Vershil in excretie (kg P/jaar)	Vershil in fosfaat-excretie (kg/jaar) ¹	Vershil in fosfaat-excretie (miljoen kg/jaar)
2000	11.155	10.820.350	11.284.398	-464.048	-1.062.670	-1,1
2005	10.827	10.502.190	10.952.593	-450.403	-1.031.423	-1,0
2010	11.941	11.582.770	12.079.516	-496.746	-1.137.548	-1,1
2016	14.324	13.894.280	14.490.158	-595.878	-1.364.561	-1,4

¹ De fosfaatexcretie (P205) is berekend door P met de factor 2,29 te vermenigvuldigen

3.2 Schatten van P in melk

3.2.1 Beste modellen als schatter voor P in melk

De samenstelling van de 52 referentiemonsters (van week 14 2017 t/m week 13 2018) is vastgesteld door analyse van vet, eiwit, lactose, droge stof, ureum, niet-caseïne eiwit, niet eiwit stikstof, alsmede het vriespunt, de volledige vetzuursamenstelling en de mineralen. Deze geanalyseerde samenstelling is in een regressieanalyse gebruikt als verklarende variabele voor het geobserveerde P-gehalte. Zie tabel 3 voor de basissamenstelling en bijlage 1 en 2 voor de volledige lijst variabelen (incl. mineralen en vetzuursamenstelling).

Voor het uitvoeren van de regressieanalyse zijn de 77 beschikbare variabelen in 6 groepen van maximaal 15 verdeeld, omdat er per regressieanalyse maximaal 15 variabelen toegevoegd kunnen worden. Met elke groep is een all subset regressie uitgevoerd. Alle variabelen die in een enkelvoudig model een verklaarde variantie (R^2_{adj}) van meer dan 50% hadden en significant ($p < 0.05$) waren, zijn geselecteerd. Dit waren de variabelen vet, eiwit, droge stof, magnesium, calcium, zink, verzadigd vetzuur C10:0, verzadigd vetzuur C12:0, verzadigd vetzuur C13:0, verzadigd vetzuur C15:0 iso en enkelvoudig onverzadigd vetzuur C-18:1 trans 11. De verklaarde variantie en significantie van elke variabele staat samengevat in tabel 5. Geen van deze variabelen bevatte uitschieters volgens de PCA loading plot en de vulcano plot.

Tabel 5 Resultaten (R_{adj}^2 en p-waarde) van de eerste all subset regressieanalyse, waarbij alle variabelen zijn selecteert die in een enkelvoudig model een verklaarde variantie hadden van meer dan 50% en significant waren.

Variabele	Verklaarde variantie (R_{adj}^2)	Significatie (p)
Calcium	66,75	<0,001
Zink	63,36	<0,001
Magnesium	62,43	<0,001
Eiwit	56,16	<0,001
Vet	55,42	<0,001
Droge stof	55,08	<0,001
C-13:0 verz.	55,64	<0,001
C-10:0 verz.	51,90	<0,001
C-12:0 verz.	50,45	<0,001
C-15:0 iso verz.	50,33	<0,001
C-18:1 trans 11 enk onverz.	57,05	<0,001

Met deze elf variabelen (vet, eiwit, droge stof, magnesium, calcium, zink, verzadigd vetzuur C10:0, verzadigd vetzuur C12:0, verzadigd vetzuur C13:0, verzadigd vetzuur C15:0 iso en enkelvoudig onverzadigd vetzuur C-18:1 trans 11) is opnieuw een all subset regressie uitgevoerd. De beste modellen zijn geselecteerd op basis van een hoge R_{adj}^2 en met significante p-waardes voor alle variabelen in het model. Genstat geeft voor elke subset (enkelvoudig, tweevoudig, drievoudig, etc.) de acht beste modellen weer op basis van de hoogste R_{adj}^2 . Van de enkelvoudige modellen zijn alleen de modellen met een R_{adj}^2 van hoger dan 60% meegenomen. Naast de enkelvoudige modellen zijn er twee- en drievoudige modellen gevonden, modellen met meer dan drie variabelen hadden geen significante p-waarden voor een of meerdere variabelen in het model. De modellen staan samengevat in tabel 6, in geen van deze modellen is sprake van multicollineariteit ($VIF < 3$).

Tabel 6 Resultaten van de tweede all subset regressieanalyse, met de beste enkelvoudige ($R_{adj}^2 > 60\%$), tweevoudige en drievoudige modellen. Weergegeven staan de verklaarde variantie (R_{adj}^2), significantie (p), mean square error (MSE) en variance inflation factor (VIF) van elk model. Eenheden van de variabelen staan beschreven in bijlage 1.

Model	R_{adj}^2	Sig. (p)	MSE	VIF ¹
Enkelvoudige modellen:				
$P_{melk} = 7,66 + 0,75 * \text{calcium}$	66,75	<0,001	4,29	n.v.t.
$P_{melk} = 21,99 + 186,88 * \text{zink}$	63,36	<0,001	4,73	n.v.t.
$P_{melk} = 1,00 + 8,83 * \text{magnesium}$	62,43	<0,001	4,85	n.v.t.
Tweevoudige modellen:				
$P_{melk} = 2,40 + 0,46 * \text{calcium} + 97,80 * \text{zink}$	73,83	<0,001	3,38	2,35
$P_{melk} = -3,79 + 5,06 * \text{magnesium} + 111,49 * \text{zink}$	73,60	<0,001	3,41	1,99
$P_{melk} = -3,02 + 6,38 * \text{magnesium} + 7,98 * \text{C12:0 verz}$	73,47	<0,001	3,42	1,43
$P_{melk} = 4,99 + 0,56 * \text{calcium} + 6,65 * \text{C12:0 verz}$	73,22	<0,001	3,46	1,64
$P_{melk} = 20,48 + 0,53 * \text{calcium} + 165,87 * \text{C13:0 verz}$	72,44	<0,001	3,56	1,96
$P_{melk} = 16,60 + 5,90 * \text{magnesium} + 196,91 * \text{C13:0 verz}$	72,07	<0,001	3,60	1,70
$P_{melk} = 2,17 + 6,22 * \text{magnesium} + 9,37 * \text{C10:0 verz}$	71,64	<0,001	3,66	1,58
$P_{melk} = 9,18 + 0,56 * \text{calcium} + 7,46 * \text{C10:0 verz}$	71,35	<0,001	3,70	1,89
Drievoudige modellen:				
$P_{melk} = -4,74 + 4,80 * \text{magnesium} + 72,98 * \text{zink} + 5,16 * \text{C12:0 verz}$	76,63	<0,001	3,01	2,78
$P_{melk} = 7,05 + 4,43 * \text{magnesium} + 78,53 * \text{zink} + 119,15 * \text{C13:0 verz}$	75,88	<0,001	3,11	2,74
$P_{melk} = 2,15 + 0,42 * \text{calcium} + 69,46 * \text{zink} + 4,41 * \text{C12:0 verz}$	75,83	<0,001	3,12	2,97
$P_{melk} = -1,76 + 4,66 * \text{magnesium} + 79,64 * \text{zink} + 5,40 * \text{C10:0 verz}$	75,44	<0,001	3,17	2,82
$P_{melk} = 11,90 + 0,40 * \text{calcium} + 72,88 * \text{zink} + 105,64 * \text{C13:0 verz}$	75,41	<0,001	3,17	2,92
$P_{melk} = 23,17 + 3,97 * \text{magnesium} + 90,40 * \text{zink} - 5,39 * \text{C18:1 trans 11}$	75,23	<0,001	3,20	2,52

¹ VIF= Variance Inflation Factor, geeft de mate van multicollineariteit tussen de variabelen weer, bij de drievoudige modellen staat alleen de hoogste VIF weergegeven. In het model van C18:1 trans 11 bevat is dat de variabele met de hoogste VIF, in de overige modellen heeft variabele zink de hoogste VIF.

Om uit te sluiten dat er variabelen uit de analyse zijn verdwenen die mogelijk ook goede voorspellers kunnen zijn, is er opnieuw een all subset regressie uitgevoerd met de variabelen die in de eerste analyse significant waren (maar een lage R_{adj}^2 hadden, zie bijlage 1 en 2, laatste kolom) en met het beste tweevoudige model, het model met calcium en zink, als uitgangspunt. Enkel de variabelen

kalium en verzadigd vetzuur C18:0 verhoogde de R^2_{adj} met meer dan 2% en waren significant (respectievelijk $R^2_{\text{adj}}=75,93$, $p=0,026$ en $R^2_{\text{adj}}=76,71$, $p=0,010$). Omdat kalium en verzadigd vetzuur C18:0 wellicht ook met andere variabelen dan calcium en zink goede modellen vormen, is er een laatste all subset regressie uitgevoerd met de elf bovengenoemde variabelen (zie tabel 5) plus kalium en verzadigd vetzuur C18:0. Met name kalium vormt met veel variabelen een goed model. De beste modellen op basis van hoge R^2_{adj} en met statistische p-waardes voor alle variabelen in het model staan weergegeven in tabel 7.

Tabel 7 Resultaten van de laatste lineaire regressieanalyse; mogelijke twee- en drievoudige modellen als voorspeller voor P in melk, inclusief de R^2_{adj} , p-waarde, MSE en VIF.

Model	R^2_{adj}	Sig. (p)	MSE	VIF ¹
Tweevoudige modellen:				
$P_{\text{melk}} = -148,73 + 0,62 * \text{kalium} + 11,39 * \text{droge stof}$	78,07	<0,001	2,83	1,02
$P_{\text{melk}} = -67,59 + 0,60 * \text{kalium} + 16,85 * \text{vet}$	77,34	<0,001	2,92	1,02
$P_{\text{melk}} = -101,82 + 0,58 * \text{kalium} + 31,42 * \text{eiwit}$	75,81	<0,001	3,12	1,03
Drievoudige modellen				
$P_{\text{melk}} = -58,59 + 0,28 * \text{calcium} + 0,47 * \text{kalium} + 11,46 * \text{vet}$	79,83	<0,001	2,60	3,29
$P_{\text{melk}} = -117,07 + 0,24 * \text{calcium} + 0,50 * \text{kalium} + 8,11 * \text{droge stof}$	79,58	<0,001	2,63	3,78
$P_{\text{melk}} = -43,36 + 0,35 * \text{kalium} + 5,18 * \text{magnesium} + 7,79 * \text{C12:0 verz}$	79,32	<0,001	2,67	1,62
$P_{\text{melk}} = -64,06 + 0,50 * \text{kalium} + 2,83 * \text{magnesium} + 12,50 * \text{vet}$	79,26	<0,001	2,68	2,87
$P_{\text{melk}} = -47,02 + 0,53 * \text{kalium} + 20,14 * \text{eiwit} - 7,51 * \text{C18:1 trans 11}$	79,18	<0,001	2,69	2,74
$P_{\text{melk}} = -36,32 + 0,45 * \text{calcium} + 0,34 * \text{kalium} + 6,75 * \text{C12:0 verz}$	78,93	<0,001	2,72	1,87
$P_{\text{melk}} = -42,15 + 0,38 * \text{kalium} + 4,75 * \text{magnesium} + 9,70 * \text{C10:0 verz}$	78,75	<0,001	2,74	1,82
$P_{\text{melk}} = -85,78 + 0,59 * \text{kalium} + 14,12 * \text{eiwit} + 10,15 * \text{vet}$	78,70	<0,001	2,75	5,39

¹ VIF= Variance Inflation Factor, geeft de mate van multicollineariteit tussen de variabelen weer, bij de drievoudige modellen staat alleen de hoogste VIF weergegeven. In de modellen die calcium bevatten, is calcium de variabele met de hoogste VIF, in de modellen zonder calcium is magnesium of C18:1 trans 11 de variabele met de hoogste VIF. In het laatste model hebben zowel eiwit als vet een VIF>5.

Modellen met een VIF hoger dan 3 vallen af in verband met multicollineariteit. Het model met de beste fit op basis van hoge R^2_{adj} en een VIF lager dan 3 bevatte de variabelen kalium, magnesium en verzadigd vetzuur C-12:0 (laurinezuur). Met behulp van een meervoudige lineaire regressie is onderstaand model ontstaan:

$$P_{\text{melk}}(\text{mg}/100\text{g}) = -43,36 + 0,35 * \text{kalium}(\text{mg}/100\text{g}) + 5,18 * \text{magnesium}(\text{mg}/100\text{g}) + 7,79 * \text{C12:0 verz}(\%)$$

Waarbij P in mg per 100 g rauwe melk wordt geschat door kalium in mg per 100 g rauwe melk, magnesium in mg per 100 g rauwe melk en het aantal verzadigde C-12:0 vetzuren als percentage van het totaal aantal vetzuren. Dit model verklaart 79,3% ($p<0,001$, $\text{MSE}=2,67$) van de geobserveerde variantie en er is geen sprake van multicollineariteit ($\text{VIF}=1,62$). Echter zouden alle modellen beschreven in tabel 6 en 7 (met $\text{VIF}<3$) goede voorspellers kunnen zijn voor fosfor, waarbij de twee- en drievoudige modellen nauwkeuriger zijn dan de enkelvoudige modellen. Bij modellen met meer dan drie variabelen waren een of meerdere variabelen in het model niet statistisch significant ($p>0,05$) en nam de multicollineariteit toe. Bij geen van de modellen zijn significante uitschieters gevonden (op basis van de Mahalanobis afstand, voor elk model $p>0,001$).

Een nadeel van het best gevonden model is dat er geen biologische verklaarbaarheid gevonden kan worden waarom kalium, magnesium en laurinezuur goede voorspellers zouden zijn voor P. Een verklaring hiervoor is dat er gebruik is gemaakt van gemiddelde melksamenstelling van de Nederlandse melkveestapel en niet individuele dierdata. Omdat biologische verklaarbaarheid de betrouwbaarheid van een model vergroot, worden hieronder verschillende modellen beschreven die wel biologisch verklaarbaar zijn.

3.2.2 Modellen op basis van theorie

Er zijn al verschillende onderzoeken gedaan waarbij verbanden tussen P-gehalte en eiwit, lactose, vet en mineralen zijn onderzocht. Deze resultaten kunnen helpen bij het vinden van een goed model om P in melk te voorspellen. In melk is ongeveer 70% van de P anorganisch en 30% organisch. Grofweg is de verdeling van P in koemelk: 20% veresterd in caseïne eiwit, 40% gebonden aan calcium als

anorganisch calciumfosfaat (waarvan het grootste deel in caseïnemicrocellen), 30% opgeloste fosfaationen en 10% in lipidenfracties (National Research Council, 2001).

3.2.2.1 Eiwit

Ongeveer 50% van de anorganische P en 70% van het totale calciumgehalte in melk bevindt zich in de caseïnemicrocellen (Goselink *et al.*, 2015). Caseïne eiwit maakt ongeveer 80% uit van alle eiwitten in koemelk. Organisch P bevindt zich voor ongeveer twee derde in caseïne (eiwit) en een derde in lipiden (vet). Omdat de verhouding tussen caseïne en P nagenoeg constant is en een relatief groot gedeelte van P zich in deze eiwitten bevindt (55% van totale P-gehalte in melk⁴), zou caseïne eiwit een goede voorspeller zijn voor P in melk (Goselink *et al.*, 2015). Onze dataset leverde gegevens over het totaal percentage eiwit en het percentage niet-caseïne eiwit, dus het percentage caseïne eiwit is hieruit berekend en zou een goede voorspeller kunnen zijn voor P. Een enkelvoudige lineaire regressie met fosfor als afhankelijke variabele en caseïne eiwit als onafhankelijke, gaf een model dat voor 55,2% de geobserveerde variantie van P in melk verklaart ($p < 0,001$, $MSE = 5,79$). Dat is lager dan een model met de variabele totaal percentage eiwit (enkelvoudige lineaire regressie, $R^2_{adj} = 56,2$, $p < 0,001$, $MSE = 5,66$). Het verschil is minimaal, wat verklaard kan worden door de relatief stabiele verhouding tussen caseïne eiwit en niet-caseïne eiwit in deze dataset (respectievelijk gemiddeld $\pm$ SD $2,78 \pm 0,06\%$ m/m en $0,78 \pm 0,02\%$ m/m, ratio niet-caseïne:caseïne is minimaal 0,27 en maximaal 0,29). In een kleinschalige studie van Wu *et al.* (2001), waar 10, 14 en 13 Holstein koeien een dieet kregen met respectievelijk 0,31, 0,39 en 0,47% P (als percentage van droge stof) tijdens de lactatieperiode, zijn verbanden onderzocht tussen P en melksamenstelling. Het percentage vet, eiwit en lactose verschilde niet tussen de groepen, maar er werd wel een trend gevonden voor een verband tussen percentage P in melk en percentage melkeiwit ($R^2 = 0,21$). Een vergelijkbaar onderzoek door dezelfde onderzoekers is een jaar eerder uitgevoerd met 26 Holstein koeien verdeeld over drie groepen met in het dieet 0,31, 0,40 en 0,49% P (als percentage van droge stof) (Wu *et al.*, 2000). Hierin werd een significant verband gevonden tussen P in melk en de concentratie melkeiwit ($R^2 = 0,37$, $p < 0,01$). Klop *et al.* (2014) bevestigt deze bevindingen, maar vond een sterker verband wanneer zowel eiwit als lactose (maar niet vet) aan het model werd toegevoegd. Dit kan worden verklaard doordat de uitscheiding van anorganische P in melk afhankelijk is van de synthese van melkcaseïne en melklactose in het endoplasmatisch reticulum en het golgi-apparaat (Goselink *et al.*, 2015). Klop *et al.* kwam op het volgende model:

$$P_{melk}(g/kg) = -0,64 + 0,0223 * melkeiwit(g/kg) + 0,0191 * melklactose(g/kg)$$

Omgeerekend naar mg P per 100 g rauwe melk en eiwit en lactose in massafractie:

$$P_{melk}(mg/100g) = -64 + 22,3 * melkeiwit(\%m/m) + 19,1 * melklactose(\%m/m)$$

Met een *root-mean-square prediction error* (RMSPE) van 6,2% en een *concordance correlation coefficient* (CCC) van 0,61. In dit onderzoek is gebruik gemaakt van individuele dierdata ($n = 278$ observaties/melkmonsters, van in totaal 121 koeien). Toegepast op de huidige dataset zou dit model een gemiddelde P-gehalte in de melk schatten van 101,5 mg P/kg melk. Dat is slechts 0,4% hoger dan de observatie. Er is ook een meervoudige regressie uitgevoerd met dezelfde variabelen, namelijk eiwit en lactose, met de huidige dataset. Dit model verklaart voor 57,2% de geobserveerde variantie ($p < 0,001$), maar lactose is niet significant verschillend van nul ($p = 0,144$), wat betekent dat lactose mogelijk geen toegevoegde waarde heeft in het model. Het model zou zijn:

$$P_{melk}(mg/100g) = -130,0 + 36,48 * melkeiwit(\%m/m) + 22,5 * melklactose(\%m/m)$$

3.2.2.2 Calcium

Calcium kan ook een goede voorspeller zijn voor het P-gehalte in melk, omdat calcium een groot gedeelte van P bindt tot calciumfosfaat (Ebringer *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2001). Dit zou leiden tot een relatief constante verhouding tussen calcium en fosfor. Een model met alleen calcium als voorspeller voor P verklaart voor 66,7% de variantie van P in melk ($p < 0,001$, $MSE = 4,29$). Dit model is valide op

⁴ 50% van de 70% anorganische fosfor in melk is 35% en twee derde van de 30% organische fosfor in melk is 20%, dat maakt een totaal van 55% fosfor in caseïne eiwit.

basis van theorie en is het best gevonden enkelvoudige model (tabel 6), maar verklaart ongeveer 12% minder van de geobserveerde variantie van P in melk dan de eerder gevonden modellen in hoofdstuk 3.2.1.

3.2.2.3 Caseïne eiwit, calcium en vet

Zoals hierboven beschreven, is P in melk aanwezig in caseïne eiwit, zit het gebonden aan calcium en bevindt zich een gedeelte in lipidenfracties (National Research Council, 2001). Op basis van deze theorie zouden de variabelen caseïne eiwit, calcium en vet goede voorspellers kunnen zijn voor P in melk. Een meervoudige regressie analyse met deze variabelen laat zien dat het model 69,1% van de variantie in P verklaart ($p < 0,001$), maar de variabele caseïne eiwit en vet zijn niet significant verschillend van nul (respectievelijk $p = 0,948$ en $0,124$) en er is sprake van multicollineariteit tussen deze variabelen ($VIF = 5,99$, correlatie coëfficiënt $p = 0,91$, $p < 0,001$). Dit betekent dat eiwit samen met vet geen goede voorspellers zijn voor P. Dit is dus geen goed model voor een dataset van gemiddelde melksamenstelling ter representatie van de gehele Nederlandse veestapel.

Een ander model is gebaseerd op de artikelen van Ebringer *et al.* (2008), Goselink *et al.* (2015) en Wu *et al.* (2001), die aangeven dat caseïne eiwit en calcium het belangrijkste gedeelte van P binden. Een model met calcium en caseïne eiwit heeft een verklaarde variantie van 68,3% ($p < 0,001$, $MSE = 4,08$, $VIF = 2,86$), maar deze variabelen zijn niet additioneel. Een model met alleen calcium heeft een verklaarde variantie van 66,7% en een model met alleen eiwit heeft een verklaarde variantie van 56,2%. Dit kan verklaard worden doordat calciumfosfaat gevonden wordt in caseïne eiwit, waardoor er een verband is tussen deze variabelen ($p = 0,81$, $p < 0,001$).

3.2.2.4 Mineralen

Caseïne is een vector voor meer mineralen, zoals zink, koper, mangaan en ijzer, waardoor deze mineralen indirect ook als voorspeller kunnen dienen voor het P-gehalte, mits de verhoudingen tussen deze mineralen en P ongeveer constant blijven (zoals beschreven in een review van Ebringer *et al.*, 2008). Er is voor de huidige dataset met behulp van een all subset regressie een model gevonden op basis van deze mineralen (inclusief calcium). Dit model bevat calcium en zink en verklaart 73,8% van de variantie in P ($p < 0,001$, $MSE = 3,38$). Dit model werd ook gevonden in hoofdstuk 3.2.1 (zie tabel 6). Op basis van biologische verklaarbaarheid wordt dit model gezien als het beste model (hoogste R^2_{adj} , de variabelen in het model zijn significant en hebben een VIF lager dan 3).

3.2.3 Modellen op basis van praktische toepasbaarheid

Het is waardevol om het P-gehalte te kunnen schatten uit andere variabelen, echter is niet alle data standaard aanwezig op een bedrijf. Voor de praktische toepasbaarheid van een model zou het model moeten bestaan uit variabelen die gemeten worden op elk bedrijf, dan wel gemakkelijk gemeten zouden kunnen worden (via MIR analyse). Data die aanwezig zijn op elk bedrijf is het vet-, eiwit- en lactosegehalte van de melk. Veehouders ontvangen deze data op groepsniveau van verschillende leveringen tankmelk en op individueel koe niveau via de melkproductieregistratie (MPR).

Analyse van het beste model gebaseerd op individuele koe-data voor de variabelen vet, eiwit en lactose is gedaan door Klop *et al.* (2014). De variabele vet had geen toegevoegde waarde in het model. Op basis van berekeningen met de dataset van het onderzoek dat in deze rapportage wordt beschreven (gemiddelde jaarrond P-gehalten van de Nederlandse melkveestapel) heeft ook lactose geen significant toegevoegde waarde ($p = 0,144$), zie tabel 7 voor de output van de verschillende meervoudige regressies.

Tabel 7 Output van enkelvoudige en meervoudige lineaire regressies van verschillende modellen om P (mg/100g) te schatten op basis van praktische toepasbaarheid, met de variabelen (in %m/m) eiwit, lactose en vet (n=52 weken).

Variabelen	Model	R ² _{adj} (%)	Sig. (p)	MSE	VIF
Eiwit *, lactose, vet	$P = -80,1 + 23,6 * \text{eiwit} + 14,6 * \text{lactose} + 7,3 * \text{vet}$	57,80	<0,001 ¹	5,44	6,51 ²
Eiwit **, lactose	$P = -130,0 + 36,5 * \text{eiwit} + 22,5 * \text{lactose}$	57,19	<0,001	5,52	1,06
Eiwit *, vet -	$P = -7,7 + 19,5 * \text{eiwit} + 9,1 * \text{vet}$	57,96	<0,001	5,42	5,32
Lactose, vet **	$P = 23,9 - 0,6 * \text{lactose} + 18,4 * \text{vet}$	54,51	<0,001	5,87	1,00
Eiwit **	$P = -23,3 + 35,0 * \text{eiwit}$	56,16	<0,001	5,66	-
Lactose	$P = 131,8 - 6,8 * \text{lactose}$	-	0,766	13,14	-
Vet **	$P = 21,1 + 18,4 * \text{vet}$	55,42	<0,001	5,75	-

** Coëfficiënt is significant met $p < 0,01$

* Coëfficiënt is significant met $p < 0,05$

- Coëfficiënt is een trend met $p < 0,1$

1 De residuen zijn niet random verdeeld

2 Hoogste VIF van variabele eiwit

De tabel laat zien dat het beste enkelvoudige model de variabele eiwit bevat, en het meervoudige model eiwit en vet (met de coëfficiënt voor vet als trend, $p = 0,082$). De verklaarde variantie is echter niet additioneel (multicollineariteit tussen eiwit en vet, $VIF = 5,32$), een model met variabele vet zou maar circa 2% meer verklaren dan een model met enkel eiwit als schatter voor P in melk.

4 Discussie en conclusies

In de studie die in dit rapport beschreven is, is het jaarrond gemiddelde fosforgehalte in de melk van de Nederlandse melkveestapel onderzocht. Voor het berekenen van de P-excretie (g/dag) via mest wordt voor het P-gehalte in melk een vaste waarde gebruikt van 0,97 g P/kg melk, omgerekend 97 mg P/100 g melk. Met de jaarrond referentiemonsters van rauwe melk is via analyse een gemiddelde P-gehalte vastgesteld van 101,2 mg P/100 g melk. Dit is 4,3% hoger dan het aangenomen P-gehalte voor melk waarmee de excretieforfaits zijn berekend. Wanneer de fosfaatexcretie in mest van melkvee wordt uitgerekend op basis van 101,2 mg P/100 g melk in plaats van 97 mg P/100 g melk, dan wordt de fosfaatexcretie met circa 1,0-1,4 miljoen kg per jaar verminderd. Dit zou voor Nederland het verschil kunnen maken tussen wel of niet het afgesproken fosfaatexcretieplafond overschrijden. Het bepalen van P in melk is relatief duur ten opzichte van de bepaling van het vet-, eiwit en lactosegehalte in melk, omdat het P-gehalte nog niet door middel van MIR analyse uitgevoerd kan worden. In de huidige studie zijn daarom verschillende modellen onderzocht om het gemiddelde P-gehalte in de melk van de nationale melkveestapel op basis van andere melkbestanddelen te schatten. De modellen met eiwit, vet en/of lactose zijn niet betrouwbaar genoeg om P in melk te schatten in de praktijk, in verband met de relatief lage verklaarde variantie en de aanwezigheid van multicollineariteit tussen eiwit en vet. Op dit moment worden enkel deze melkbestanddelen (en ureum) bepaald via MIR analyse, omdat er geen toegevoegde waarde van de andere melkbestanddelen voor de veehouder is. Wanneer het P-gehalte in melk geschat kan worden op basis van andere bestanddelen, dan is die toegevoegde waarde er wel.

Het beste (statistische) model op basis van hoge verklaarde variantie en geen of weinig multicollineariteit was het model met kalium, magnesium en verzadigd vetzuur C-12:0 (laurinezuur).

Het model is $P_{melk}(mg/100g) = -43,36 + 0,35 * kalium(mg/100g) + 5,18 * magnesium(mg/100g) + 7,79 * C12:0 verz(\%)$ en verklaarde voor 79,3% de variantie van P. Echter kan dit model niet onderbouwd worden op basis van theorie. Er kan geen biologische verklaring gevonden worden waarom kalium, magnesium en laurinezuur goede voorspellers zouden zijn voor P. Mogelijk ligt de reden hiervoor in het gebruik van de gemiddelde melksamenstelling van de Nederlandse melkveestapel. Hierdoor is een groot deel van de variatie die leidt tot verbanden tussen P en andere componenten verdwenen.

Seizoensgebonden variatie was wel aanwezig in de dataset en het is mogelijk dat de variabelen in deze dataset een vergelijkbaar patroon over seizoenen lieten zien. Het beste model dat wel biologisch verklaard kan worden bevatte calcium en zink (verklaarde variantie van 73,8%): $P_{melk}(mg/100g) = 2,40 + 0,46 * calcium(mg/100g) + 97,80 * zink(mg/100g)$. Circa 40% van P in melk zit gebonden aan calcium als anorganisch calciumfosfaat en calciumfosfaat zit gebonden aan serine in caseïne micellen. Deze verbindingen spelen onder andere een rol bij de interactie met ionische zink en calcium (Burrow *et al.*, 2019). Naast theoretische betrouwbaarheid, hebben eenvoudige modellen voor praktijkgebruik de voorkeur. Het beste enkelvoudige model bevatte enkel calcium en verklaart 66,7% van de geobserveerde variantie in P: $P_{melk}(mg/100g) = 7,66 + 0,75 * calcium(mg/100g)$.

Overige variabelen die op basis van theorie een schatter zouden kunnen zijn voor het P-gehalte in melk waren eiwitgehalte, caseïne eiwit en lactose. In deze studie werden deze niet gevonden als beste voorspeller voor P. Dit betekent echter niet dat er geen verband is tussen deze variabelen en P. Deze variabelen hebben wellicht een minder vergelijkbaar patroon met P over het jaar dan bijvoorbeeld calcium. De dataset die is gebruikt bevat jaarrond gemiddelden die representatief zijn voor de Nederlandse melkveestapel. Omdat het veestapelgemiddelden betreft is de variatie veel kleiner dan in een dataset met individuele data. Het is mogelijk dat op basis van individuele data wel een voorspellende waarde van variabelen als eiwit en lactose wordt gevonden. Daarnaast is in deze studie aangenomen dat de data onafhankelijk zijn, terwijl het mogelijk is dat er een grotere correlatie is tussen de data van opeenvolgende weken dan tussen data waar weken of maanden tussen zit.

De beschreven modellen zijn bedoeld om het gemiddelde P-gehalte in melk van de Nederlandse melkveestapel te schatten. Het is de vraag of deze modellen gebruikt kunnen worden op individueel bedrijfsniveau. Daarvoor zijn modellen op basis van individuele dierdata waarschijnlijk beter geschikt, maar dergelijke data ontbreken omdat analyse van het P-gehalte in melk duur is. Onderzoek naar de

mogelijkheid om het P-gehalte in melk via de goedkopere MIR analyse te bepalen (Wageningen University & Research, 2017; Bovenhuis *et al.*, 2018) laat zien dat de beschikbaarheid van individuele dierdata met betrekking tot het P-gehalte in melk kan toenemen. Met MIR analyse werd 84% van de variatie in P verklaard. Deze verklaarde variatie kan niet één op één vergeleken worden met de verklaarde variatie van de modellen beschreven in dit rapport. In de studie van Bovenhuis en collega's (2018) ging het om melk van individuele koeien (uitsluitend vaarzen) en waren er alleen melkmonsters genomen in de ochtend genomen. De hoge verklaarde variatie voor de vaarzen in de studie laat wel de potentie zien van MIR analyse om het P-gehalte in melk te voorspellen. Het direct bepalen van P in melk met behulp van MIR analyse is minder omslachtig en wellicht betrouwbaarder dan bijvoorbeeld via een model het P-gehalte in melk schatten op basis van calcium dat bepaald is via MIR analyse.

Sinds 2019 bepalen alle leden van Nederlandse Zuivel Organisatie (NZO) het P-gehalte in iedere levering tankmelk met behulp van MIR analyse. NZO is de branchevereniging van de zuivelsector met 13 zuivelbedrijven als lid. Deze bedrijven zijn goed voor 98% van de zuivelproductie in Nederland. Op basis van deze (nieuwe) gegevens van NZO kan de ontwikkeling van het P-gehalte in de melk van de Nederlandse melkveestapel eenvoudig en betrouwbaar gevolgd worden.

Conclusies:

1. Het jaarrond gemiddeld P-gehalte in melk is 4,3% hoger dan het huidige forfait. Het jaarrond gemiddelde P-gehalte in de melk van de Nederlandse melkveestapel is 1,012 g P/ kg rauwe melk, terwijl het vaste aangenomen P-gehalte in de excretieforfaits 0,97 g P/ kg rauwe melk is. Wanneer de excretie niet met 0,97 g P/kg melk maar met 1,012 g P/kg melk wordt berekend, zal de fosfaatexcretie in mest van melkvee met circa 1,0 tot 1,4 miljoen kg per jaar verminderen.
2. Het P-gehalte in melk kan voorspeld worden uit andere melkbestanddelen. Het beste model met biologische verklaarbaarheid bevat de variabelen calcium en zink, verklaart voor 73,8% de geobserveerde variantie in P en ziet er als volgt uit:

$$P_{melk}(mg/100g) = 2,40 + 0,46 * calcium(mg/100g) + 97,80 * zink(mg/100g)$$

3. Het beste enkelvoudige model bevat de variabele calcium en verklaart voor 66,7% de geobserveerde variantie in P:

$$P_{melk}(mg/100g) = 7,66 + 0,75 * calcium(mg/100g)$$

Literatuur

- Bovenhuis, H., Jibrila, I., & Dijkstra, J. (2018). Predicting milk phosphorus content based on genotypic and milk infrared data. *Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 11.534.
- Burrow, K., Young, W., Carne, A., McConnell, M., & Bekhit, A. E. D. (2019). Interactions of Milk Proteins With Minerals.
- CBS. (2018, 15 juni). StatLine Melkaanvoer en zuivelproductie door zuivelfabrieken. Geraadpleegd van <https://opendata.cbs.nl/#/CBS/nl/dataset/7425zuiv/table?ts=1529406259940>.
- Ebringer, L., Ferencík, M., & Krajčovič, J. (2008). Beneficial health effects of milk and fermented dairy products. *Folia Microbiologica*, 53(5), 378-394.
- Goselink, R.M.A., Klop, G., Dijkstra, J., & Bannink, A. (2014). Phosphorus metabolism in dairy cattle; a literature study on recent developments and missing links. Wageningen, Wageningen UR (University & Research centre) Livestock Research, Livestock Research Report 910.
- Hair, J. F., Risher, J. J., Sarstedt, M., & Ringle, C. M. (2018). When to use and how to report the results of PLS-SEM. *European Business Review*, (just-accepted), 00-00.
- Klop, G., Ellis, J. L., Blok, M. C., Brandsma, G. G., Bannink, A., & Dijkstra, J. (2014). Variation in phosphorus content of milk from dairy cattle as affected by differences in milk composition. *The Journal of Agricultural Science*, 152(5), 860-869.
- National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle: 2001. National Academies Press.
- Tabachnick, B.G., & Fidell, L.S. (2007). Using Multivariate Statistics (5th Ed.). Allyn & Bacon/Pearson Education, p. 74.
- Wageningen University & Research. (2015, 10 februari). Fosfaatexcretie melkveehouderij stijgt in 2013. Geraadpleegd van: <https://www.agrimatie.nl/ThemaResultaat.aspx?subpubID=2232&themaID=2282&indicatorID=2454>
- Wageningen University & Research. (2017, 4 april). Persbericht - Nieuwe methode voor fosforbepaling in melk kan fosfaatproductie melkveehouderij met miljoenen kg terugdringen. Geraadpleegd van <https://www.wur.nl/nl/nieuws/Nieuwe-methode-voor-fosforbepaling-in-melk-kan-fosfaatproductie-melkveehouderij-met-miljoenen-kg-terugdringen-.htm>.
- Wu, Z., Satter, L. D., & Sojo, R. (2000). Milk Production, Reproductive Performance, and Fecal Excretion of Phosphorus by Dairy Cows Fed Three Amounts of Phosphorus¹. *Journal of Dairy Science*, 83(5), 1028-1041.
- Wu, Z., Satter, L. D., Blohowiak, A. J., Stauffacher, R. H., & Wilson, J. H. (2001). Milk Production, Estimated Phosphorus Excretion, and Bone Characteristics of Dairy Cows Fed Different Amounts of Phosphorus for Two or Three Years¹. *Journal of Dairy Science*, 84(7), 1738-1748.

Bijlage 1 Geanalyseerde variabelen in de rauwe melk

Tabel 1.1 Volledige lijst van de geanalyseerde variabelen in de rauwe melk inclusief eenheid, voor de volledige lijst van geanalyseerde vetzuren, zie bijlage 2.

Variabele	Eenheid	Gem.	SD	Min	Max	R ² _{adj} (voor P) ¹
Vet	Percentage massa per massa (% m/m)	4,34	0,14	4,08	4,60	55,42*
Eiwit	% m/m	3,56	0,08	3,41	3,70	56,16*
Lactose	% m/m	4,51	0,02	4,47	4,55	0,00
Droge stof	% m/m	13,37	0,22	12,94	13,71	55,06*
Ureum	Milligram per 100 gram rauwe melk (mg/100 g)	22,54	1,22	20,00	25,00	17,41*
Niet-caseïne eiwit	% m/m	0,78	0,02	0,73	0,81	34,26*
Niet eiwit stikstof	% m/m	0,20	0,01	0,19	0,21	8,79*
Vriespunt	Graden Celsius (°C)	-0,52	0,00	-0,52	-0,52	1,85
Natrium	mg/100 g	37,69	4,36	33,94	46,85	4,29
Magnesium	mg/100 g	11,34	0,32	10,65	12,15	62,43*
Fosfor	mg/100 g	101,16	3,56	92,80	109,63	-
Kalium	mg/100 g	158,44	2,79	153,31	164,93	30,73*
Calcium	mg/100 g	124,02	3,87	115,38	133,31	66,75*
IJzer	mg/100 g	0,02	0,00	0,02	0,02	29,57*
Mangaan	Microgram per 100 gram rauwe melk (µg/100 g)	2,26	0,15	1,83	2,65	49,17*
Koper	µg/100 g	6,35	3,05	3,14	27,56	0,72
Zink	mg/100 g	0,42	0,02	0,39	0,46	63,36*
Verzadigde vetzuren	% van totaal aantal vetzuren	70,56	1,23	68,27	72,34	45,55*
Onverzadigde vetzuren	% van totaal aantal vetzuren	29,44	1,23	27,66	31,73	45,55*
CLA vetzuren	% van totaal aantal vetzuren	0,45	0,06	0,35	0,60	45,09*
Omega-3 vetzuren	% van totaal aantal vetzuren	0,64	0,03	0,58	0,70	14,62*
Omega-6 vetzuren	% van totaal aantal vetzuren	1,76	0,07	1,57	1,88	0,00
Enkelvoudig onverzadigde vetzuren	% van totaal aantal vetzuren	25,37	1,10	23,70	27,26	43,77*
Meervoudig onverzadigde vetzuren	% van totaal aantal vetzuren	3,03	0,12	2,72	3,24	23,16*
Onbenoemde vetzuren	% van totaal aantal vetzuren	1,04	0,16	0,61	1,50	55,16*

¹ De R²_{adj} beschrijft de verklaarde variatie van het P-gehalte in de melk (mg/100 g) door het enkelvoudige lineaire regressiemodel met de betreffende variabele. Significantie (p<0.05) is aangeduid met een *

Bijlage 2 Geanalyseerde vetzuren in de rauwe melk

Tabel 2.1 Volledige lijst van de geanalyseerde vetzuren in de rauwe melk, uitgedrukt als percentage (%) van het totaal aantal vetzuren aanwezig in de melk.

Vetzuur	Verzadigd of onverzadigd, enkelvoudig of meervoudig	Gem.	SD	Min	Max	R ² _{adj} ¹
C-4:0	Verzadigd	3,62	0,13	3,14	3,98	2,27
C-5:0	Verzadigd	0,01	0,01	0,00	0,03	0,00
C-6:0	Verzadigd	2,34	0,08	2,19	2,59	26,24*
C-7:0	Verzadigd	0,01	0,01	0,00	0,03	0,00
C-8:0	Verzadigd	1,32	0,05	1,22	1,42	45,19*
C-9:0	Verzadigd	0,03	0,01	0,00	0,04	0,61
C-10:0	Verzadigd	3,03	0,15	2,74	3,28	51,90*
C-10:1	enkelvoudig onverzadigd	0,32	0,02	0,30	0,36	27,18*
C-11:0	Verzadigd	0,06	0,01	0,04	0,07	49,56*
C-12:0	Verzadigd	3,99	0,18	3,60	4,27	50,45*
C-12:1	enkelvoudig onverzadigd	0,09	0,02	0,06	0,12	0,00
C-13:0	Verzadigd	0,09	0,01	0,07	0,10	55,64*
C-14:0 iso	Verzadigd	0,08	0,00	0,07	0,10	10,01*
C-14:0	Verzadigd	11,55	0,32	10,99	12,01	43,28*
C-14:1 cis 9	enkelvoudig onverzadigd	1,11	0,06	0,97	1,22	27,38*
C-15:0 iso	Verzadigd	0,23	0,01	0,21	0,26	50,33*
C-15:0 ante iso	verzadigd	0,45	0,02	0,41	0,49	35,95*
C-15:0	verzadigd	1,07	0,04	0,99	1,13	38,40*
C-16:0 iso	verzadigd	0,19	0,01	0,18	0,21	31,49*
Pristanic-acid	meervoudig onverzadigd	0,01	0,01	0,00	0,03	2,82
C-16:0	verzadigd	31,33	1,05	29,04	32,83	31,86*
C-16:1 trans 9	enkelvoudig onverzadigd	0,18	0,02	0,15	0,20	46,30*
C-16:1 cis 9	enkelvoudig onverzadigd	1,60	0,06	1,50	1,72	2,25
C-17:0 iso	verzadigd	0,35	0,02	0,33	0,39	42,50*
C-17:0 ante iso	verzadigd	0,39	0,01	0,37	0,43	19,62*
Phytanic-acid	meervoudig onverzadigd	0,17	0,02	0,15	0,22	15,96*
C-17:0	verzadigd	0,52	0,01	0,50	0,55	29,46*
C-17:1 cis 9	enkelvoudig onverzadigd	0,20	0,01	0,19	0,22	26,69*
C-18:0	verzadigd	9,60	0,52	8,68	10,98	28,90*
C-18:1 trans 6	enkelvoudig onverzadigd	0,23	0,02	0,18	0,27	28,46*
C-18:1 trans 9	enkelvoudig onverzadigd	0,16	0,03	0,00	0,20	0,00
C-18:1 trans 10	enkelvoudig onverzadigd	0,25	0,03	0,20	0,32	14,98*
C-18:1 trans 11	enkelvoudig onverzadigd	0,99	0,15	0,77	1,31	57,05*
C-18:1 cis 9	enkelvoudig onverzadigd	18,42	0,92	17,04	20,01	43,36*
C-18:1 cis 11	enkelvoudig onverzadigd	0,74	0,04	0,67	0,85	19,38*
C-18:1 cis 12	enkelvoudig onverzadigd	0,23	0,02	0,19	0,27	5,35
C-18:1 cis 13	enkelvoudig onverzadigd	0,13	0,01	0,12	0,15	31,05*
C-18:1 cis 14	enkelvoudig onverzadigd	0,40	0,01	0,36	0,43	8,38*
C-18:1 cis 15	enkelvoudig onverzadigd	0,32	0,02	0,28	0,35	20,31*
C-18:2 cis 9,12 (LA) - Ω-6 vetzuur	meervoudig onverzadigd	1,55	0,07	1,37	1,71	0,00
C-19:0	verzadigd	0,14	0,00	0,13	0,15	0,00
C-18:3 cis 6,9,12 (GLA) - Ω-6 vetzuur	meervoudig onverzadigd	0,06	0,01	0,00	0,07	0,00
C-18:3 cis 9,12,15 (ALA) - Ω-3 vetzuur	meervoudig onverzadigd	0,48	0,02	0,44	0,54	18,08*
C-18:2 cis 9, trans 11	meervoudig onverzadigd	0,45	0,06	0,35	0,60	43,91*
C-20:0	verzadigd	0,12	0,01	0,11	0,14	0,00
C-20:3 cis 8,11,14 (DGLA) - Ω-6 vetzuur	meervoudig onverzadigd	0,06	0,00	0,06	0,07	0,00
C-20:4 cis 5,8,11,14 (AA) - Ω-6 vetzuur	meervoudig onverzadigd	0,08	0,00	0,07	0,10	6,00*
C-22:0	verzadigd	0,04	0,01	0,00	0,05	0,00
C-20:4 cis 8,11,14,17 (ETA) - Ω-3 vetzuur	meervoudig onverzadigd	0,03	0,01	0,00	0,04	2,57

C-20:5 cis 5,8,11,14,17 (EPA) - Ω-3 vetzuur	meervoudig onverzadigd	0,06	0,00	0,05	0,07	0,00
C-23:0	verzadigd	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C-24:0	verzadigd	0,01	0,01	0,00	0,03	3,22
C-22:5 cis 7,10,13,16,19 (DPA) - Ω-3 vetzuur	meervoudig onverzadigd	0,07	0,01	0,05	0,09	8,46*

1 De R²adj beschrijft de verklaarde variatie van het P-gehalte in de melk (mg/100 g) door het enkelvoudige lineaire regressiemodel met de betreffende variabele. Significantie (p<0.05) is aangeduid met een *

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life

Wageningen Livestock Research Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
E info.livestockresearch@wur.nl [www.wur.nl/
livestock-research](http://www.wur.nl/livestock-research)

Wageningen Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.500 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.