

Afdeling Algemene Chemie 1984-09-14
RAPPORT 84.88 Pr.nr. 505.6030
Onderwerp: Bepaling van glycomacropeptide
 (GMP) in melkpoeders m.b.v.
 NIR

Bijlagen: 4.

Verzendlijst: directeur, sektorhoofden, direktie VKA, afd. Algemene
 Chemie (4x), afd. Normalisatie/Harmonisatie (Humme),
 Projektbeheer, Projektleider (Frankhuizen).

Projekt: Ontwikkeling van methoden voor onderzoek voor melk- en zuivelprodukten met behulp van NIR

Onderwerp: De bepaling van glycomacropeptide (GMP) in melkpoeders m.b.v. NIR

Bijlagen: 4

Doel:

Nagaan of magere melkpoeders met behulp van NIR gescreend kunnen worden op het gehalte aan glycomacropeptide.

Samenvatting:

Met behulp van 150 calibratiemonsters werd het verband vastgesteld tussen de met de referentiemethode gevonden gehalten aan glycomacropeptide en de bij de gekozen golflengten gemeten absorpties.

Hieruit werd een hoogste multiple correlatiecoëfficiënt tussen voorspelde- en referentiewaarde berekend van 0,40 ($= R^2$) met daarbij een standaardafwijking van de verschillen van 4% weipoeder.

Met een calibratieset van 16 op grond van samenstelling en herkomst geselecteerde monsters werd een multiple correlatiecoëfficiënt tussen voorspelde- en referentiewaarde berekend van 0,99 ($= R^2$) met daarbij een standaardafwijking van de verschillen van 0,02% GMP (d.i. ca. 1% weipoeder).

Conclusie:

Er werd geen correlatie gevonden tussen het GMP gehalte voorspeld met de IA-400 en de referentiemethoden voor 150 willekeurige monsters melkpoeder. Dit lijkt veroorzaakt te worden door de lage gehalten aan GMP en de kleine spreiding in het gehalte in de meeste melkpoeders, het niet aanwezig zijn van de juiste filters en/of ontoereikend discriminerend vermogen van het instrument voor wat betreft afzonderlijke peptiden. De resultaten van 16 geselecteerde monsters zijn zodanig dat vervolgonderzoek met behulp van een IA-500 gerechtvaardigd lijkt.

Verantwoordelijk: drs N.G. van der Veen 
Medewerkers/Samenstellers: E.A.M. Boers, R. Frankhuizen
Projectleider: R. Frankhuizen 

1. Inleiding

Caseïne en wei-eiwit zijn in melk aanwezig in de verhouding 80:20. Ze kunnen op twee manieren worden gescheiden. Allereerst via de kaasbereiding, waarbij na inwerking van het stremsel de caseïne-frakties neerslaan en de wei-eiwitten in de kaaswei blijven. Daarnaast kunnen ze gescheiden worden door de pH van de melk te verlagen.

Kaasbereiding

In het algemeen wordt de melk eerst op het gewenste vetgehalte gebracht en vervolgens laag gepasteuriseerd. Na koeling tot een geschikte fermentatie-temperatuur wordt een stremmend ferment het zogenaamde stremsel (meestal leb, gewonnen uit de lebmaag van jonge kalveren) toegevoegd. Het glycomacropeptide (GMP) wordt afgesplitst door inwerking van het stremsel op κ -caseïne zoals onderstaand schematisch is weergegeven.

κ -caseïne $\xrightarrow{\text{stremsel}}$ κ -paracaseïne + glycomacropeptide.

Door toevoeging van calciumionen ontstaat uit κ -paracaseïne en de overige caseïnes een gel (wrongel).

Na het stremproces ondergaat de massa in de kaasbak verschillende roerende en snijdende behandelingen, waarbij een min of meer scheidende werking tussen de caseïne en de wei optreedt.

De wei-produkten die beschikbaar komen bij de kaasproduktie werden tot het begin van de zeventiger jaren veelal tot veevoer verwerkt.

Wei-eiwit bevat alle essentiële aminozuren in een voor de mens gunstige verhouding, waardoor het ook zeer geschikt is voor gebruik in zuigelingenvoeding of in andere, bijzondere voedingen die rijk aan eiwit dienen te zijn. Daarom werden technologieën en processen ontwikkeld om het hoogwaardige wei-eiwit in voor de menselijke consumptie geschikte voedingsmiddelen te verwerken.

De toepassingsmogelijkheden zijn nog niet uitputtend onderzocht, maar het wei-eiwitconcentraat kan onder meer functioneel worden gebruikt in bakkerswaren, deegwaren, frisdranken, vleeswaren zoals bijv. hamburgers etc.

Het een en ander is vooralsnog onvoldoende om de naar schatting 20 miljoen kilo wei-eiwit die er elk jaar in Nederland beschikbaar komt, te verwerken. Derhalve wordt nog steeds een groot deel van de productie tot veevoeder verwerkt, waarbij de handelswaarde slechts ca. f 1,00/kg weipoeder (ca. 13% wei-eiwit) bedraagt.

De melkproduktie in West-Europa en met name in Nederland is de laatste decennia dermate gestegen dat er een overcapaciteit is ontstaan, welke geleid heeft tot de bekende melkpoederberg. Om de inkomens van boeren te waarborgen heeft de EEG een aantal maatregelen afgekondigd. Deze maatregelen (EEG-Verordeningen) houden in dat de EEG het teveel geproduceerde opkoopt tegen een minimumprijs. De voorraden van dit zogenaamde interventiepoeder zijn echter dermate gegroeid dat tot subsidie is overgegaan bij verwerking van melkpoeder tot veevoeder. De subsidie bedraagt - door het grote verschil in de prijs van de veevoedergrondstoffen en melkpoeder - ca. f 4,00/kg. Door het grote verschil in prijs van weipoeder (f 1,00/kg) en magere melkpoeder (f 4,00/kg) is de verleiding aanwezig om weipoeder te verkopen c.q. te verwerken in plaats van magere melkpoeder of aan magere melkpoeder een bepaald percentage weipoeder toe te voegen. De EEG heeft dan ook gesteld dat magere melkpoeder aangeboden voor subsidie geen weipoeder mag bevatten.

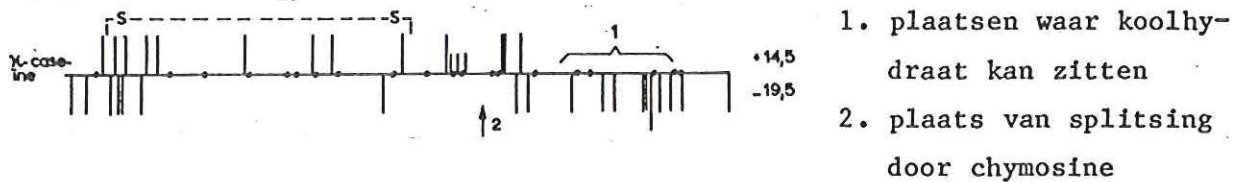
De controle op de aanwezigheid van weipoeder in magere melkpoeder kan op een aantal manieren gebeuren. De bekendste chemische parameters zijn: het wei-peptidegehalte, het sialinezuurgehalte en het cysteïne/cystinegehalte. De methoden waarmee deze parameters bepaald worden zijn echter onvoldoende specifiek om toevoegingen beneden ca. 5% aan te tonen.

Sinds kort is er echter een meer specifieke methode beschikbaar. Deze berust op de bepaling van het gehalte aan glycomacropeptide (GMP) met behulp van hogedrukvlloeistofchromatografie (HPLC) bij gebruik van een gelpermeatiekolom. Voor Nederlandse poeders zijn met behulp van deze methode percentages $> 0,5$ en voor buitenlandse poeders percentages $> 0,8$ aan te tonen. Hoewel de methode goed uitvoerbaar is, is met name de monstervoorbereiding tijdrovend.

Omdat enerzijds het aantal monsters voor controle zeer groot is (ca. 10.000/jaar) en anderzijds het aantal positieve monsters klein, bestaat er behoefte om met behulp van een screeningsmethode een voorselectie te maken. Omdat monsters melkpoeder in het kader van EEG-verordeningen betreffende toekenning van steun op verwerking van melkpoeder tot veevoeder op het RIKILT met succes gescreend worden op hun samenstellende bestanddelen met behulp van NIRA zijn de mogelijkheden onderzocht om met behulp van deze techniek tevens het glycomacropeptide gehalte van magere melkpoeders vast te stellen.

1.1 Glycomacropeptide

χ -caseïne is een glycoproteïne dat gemakkelijk wordt aangetast door chymosine (het enzym uit stremsel). Hierbij wordt het zgn. glycomacropeptide afgesplitst (figuur 1).



Figuur 1. Peptide-keten van χ -caseïne. De verticale strepen duiden positieve resp. negatieve ladingen aan (exclusief die van neuraminezuur) de stippen prolineresiduën; ---S---S---: cystine-bruggen.

Melkeiwit bestaat voor ca. 11% uit χ -caseïne (molecuulgewicht 19023). Het glycomacropeptide heeft een molecuulgewicht van ca. 8000. Er van uitgaande dat de splitsing volledig is, ontstaat er 2.35% GMP in de waar. Dit is als volgt in te zien:

19 % van het totale eiwit bestaat uit serumeiwit

2 % van het totale eiwit bestaat uit diversen

4,63% van het totale eiwit bestaat uit GMP (nl. $\frac{8000}{19023} \times 11\%$)

25,63% van het totale eiwit bestaat uit eiwit anders dan caseïne.

Dit gedeelte komt in de wei terecht. Gemiddeld bevat melkpoeder 36% eiwit (in de waar). Hiervan is 25,63% niet caseïne eiwit. Melkpoeder bevat dus gemiddeld 9,23% niet caseïne eiwit $\left(\frac{36}{100} \times 25,63\% \right)$
 1,67% hiervan is GMP $\left(\frac{4,63}{25,63} \times 9,23 = 1,67 \right)$.

Weipoeder bevat echter geen 9,23% eiwit maar gemiddeld 13%. Hiervan is dan $\frac{13}{9,23} \times 1,67 = 2,35\%$ GMP.

1% weipoeder toevoeging aan magere melkpoeder betekent derhalve een toename van het GMP gehalte van 0,0235%.

2. Materiaal en methoden

2.1 Materiaal

Voor de calibratie werden 150 monsters melkpoeder - waaronder een aantal mengsels met (zoete) karnemelkpoeder en weipoeder - geanalyseerd. Het bleek, in verband met het ontbreken van een voldoende aantal monsters met verhoogd GMP gehalte, niet mogelijk om een goede opbouw van de calibratie set te verkrijgen (zie frequentieverdeling bijlage 1, blz. 2).

2.2 Apparatuur

De NIR apparatuur, gebruikt bij dit onderzoek, bestond uit een Technicon Infra Alyzer 400 (IA-400) met 19 filters, gekoppeld aan een Hewlett Packard 85 (32 k Bytes) microcomputer.

2.3 Methode

De gehalten aan "peptiden" werden bepaald volgens intern RIKILT-voorschrift: Bepaling van het weipectidegehalte van melkpoeder (routine-methode 1984-06-01).

De gehalten aan glycomacropeptiden (GMP) werden bepaald volgens intern RIKILT voorschrift: Bepaling van het gehalte aan lebweipoeder in melkpoeder en zoete karnemelkpoeder met behulp van hogedrukvlloeistofchromatografie (HPLC) nr. B 71 (1982-12-21).

De bepalingen werden in simplo uitgevoerd en in de computer gebracht.

3. Resultaten

Met behulp van de calibratiemonsters werd het verband vastgesteld tussen de gevonden gehalten aan glycomacropeptide en de bij de - met behulp van terugwaartse (backwards) en voorwaartse (upwards) meer-voudige lineaire regressieberekening - geselecteerde golflengten gemeten absorpties. De resultaten hiervan staan vermeld in tabel 1 en bijlagen 1 t/m 3.

Tabel 1 Calibratie gegevens van de Infra Alyzer 400

Component rekenmethode	% weipoeder backwards	% weipoeder upwards	% GMP backwards	% GMP upwards	% GMP upwards	% GMP upwards
N	150	150	150	149	149	149
R ²	0,40	0,13	0,32	0,05	0,09	0,14
s(v)	3,96	-	0,071	-	-	-
# filters	19	2	19	2	3	4
F-ratio	10	22	7	8	9	11
Range	2-26	2-26	0-0,45	0-0,45	0-0,45	0-0,45

Uit de calibratie set worden vervolgens 16 monsters geselecteerd op grond van samenstelling, herkomst etc. Met deze monsters werd een backwards berekening uitgevoerd. De resultaten hiervan staan vermeld in tabel 2 en bijlage 4.

Tabel 2

component rekenmethode	% GMP backwards
N	16
R ²	0,99
s(v)	0,02
# filters	12
F-ratio	84
range	0-0,45

4. Discussie

De resultaten verkregen met de backwards rekenmethode met 150 monsters onderzocht op het gehalte aan weipoeder zijn, gelet op de correlatie coëfficiënt (R²) het minst slecht (tabel 1, kolom 2). De hierbij berekende F-waarden (hoogste waarde ca. 16000 !! (bijlage 1) en de standaarddeviatie van het verschil s(v) = 3,96% maken praktische toepassing onmogelijk. Immers door een kleine onnauwkeurigheid in de meting te vermenigvuldigen met een grote factor (= F-waarde) wordt een grote fout geïntroduceerd. Dit uit zich o.a. ook in de F-ratio, een grootheid welke een indicatie geeft van de totale betrouwbaarheid van de calibratie en normaliter moet liggen tussen de 100-1000 of zelfs hoger (van bovengenoemde calibratie is de F-ratio 10!!).

De overige berekeningen (zie tabel 1, kolom 3 t/m 7) geven weliswaar "normale" F-waarden; van enige correlatie is echter geen sprake.

Het een en ander heeft waarschijnlijk een drietal oorzaken, te weten:

1. De gehalten aan GMP in "normale magere melkpoeder" zijn erg laag, terwijl de range smal is. Hierdoor wordt kwantitatieve meting bemoeilijkt, dit in verband met geringe absorptie en geringe absorptieverschillen. De spreiding (range) van het GMP gehalte in normale melkpoeders is erg klein en voldoet niet aan de vuistregel van $\text{range} = > 20 \times \text{SD}$ van de lab methode.
2. Het GMP gehalte in melkpoeder is verhoogd indien wei(poeder) is toegevoegd. Hierdoor neemt het eiwitgehalte echter af en het lactosegehalte toe hetgeen van invloed kan zijn op de meting van het GMP-gehalte (intercorrelatie).
3. Melkeiwitten bevatten naast het GMP vele tientallen verschillende peptiden. Het is derhalve de vraag of het discriminerend vermogen van de techniek toereikend is voor de bepaling van het GMP en of de specifieke golflengten waarbij absorptie optreedt voor GMP aanwezig zijn in de IA-400.

Door één dan wel een combinatie van deze punten ontstaat er een onbetrouwbare calibratie, hetgeen zich zoals vermeld o.a. uit in een groot aantal filters en een lage F-ratio (zie tabel 1 en 2).

De resultaten van de berekening van de 16 geselecteerde monsters (tabel 2) lijken enig perspectief te hebben. Opgemerkt zij dat het hier gaat om een kleine groep geselecteerde monsters ($n=16$), terwijl het aantal filters en de F-waarden groot is en de F-ratio laag (tabel 2 en bijlage 4).

5. Conclusie

Er werd geen correlatie gevonden tussen het GMP gehalte voorspeld met de Infra Alyzer 400 en de referentie methoden voor 150 willekeurige monsters melkpoeder. Het een en ander wordt veroorzaakt door de lage gehalten en de kleine spreiding van het GMP in melkpoeder, het niet aanwezig zijn van de juiste filters en/of ontoereikend discriminerend vermogen van het instrument voor wat betreft afzonderlijke peptiden. De resultaten van 16 geselecteerde monsters zijn zodanig dat vervolgonderzoek met behulp van een Infra Alyzer 500 gerechtvaardigd lijkt.

REGRESSION ANALYSIS

Constituent: WEIPOEDER (%)

Normalizing Filter: None

Filter Selection

2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17
18	19	20					

19 Predictor Variables and
390 Records included

MMP amp (HPLC) WEIPOEDER (%)
Regress'n TAPE #06011 Norm: Log00

MULTIPLE CORRELAT'N (R²) 0.4024

STANDARD ERROR 3.9595

INDEX SYSTEM ERROR 177.2563

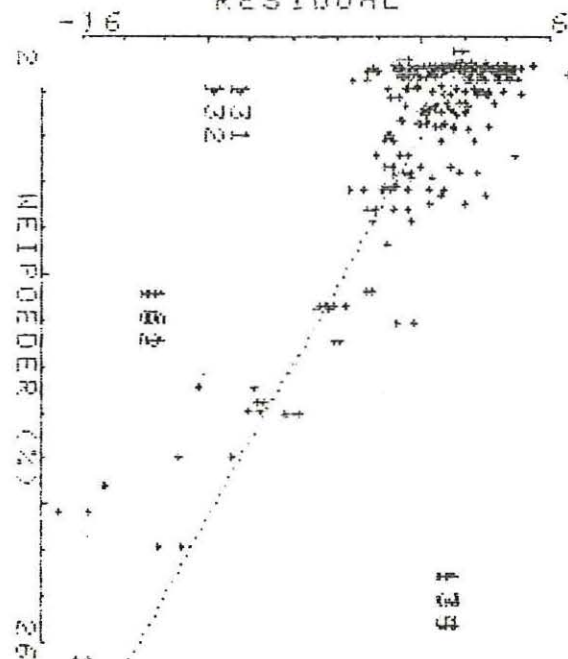
COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	13.650	3.20
FILTER F02	-1451.277	0.91
FILTER F03	2676.310	2.11
FILTER F04	-3683.730	4.57
FILTER F05	3378.029	3.86
FILTER F06	1692.615	1.99
FILTER F07	-1965.688	1.34
FILTER F08	-7430.798	1.88
FILTER F09	5099.247	4.06
FILTER F10	4686.578	1.40
FILTER F11	-143.873	0.40
FILTER F12	-9081.750	3.64
FILTER F13	15895.240	3.32
FILTER F14	-3574.793	3.45
FILTER F15	-8390.773	1.83
FILTER F16	-162.093	0.60
FILTER F17	6412.716	3.18
FILTER F18	-3204.663	1.35
FILTER F19	488.969	2.15
FILTER F20	-1063.010	2.09

RESIDUAL STD. DEV. (s) 3.8320

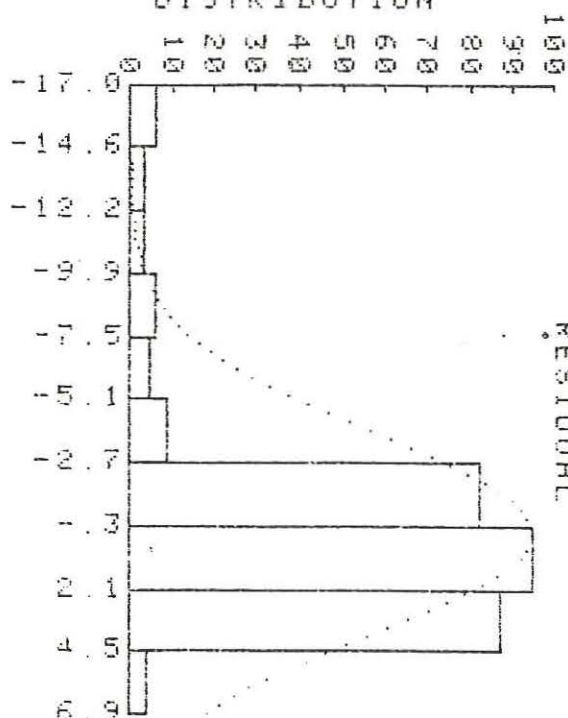
CORRELATION COEFF. (R) 0.6342

REGRESSION F-RATIO 9.9168

MMP amp (HPLC) WEIPOEDER (%)
Regress'n TAPE #06011 Norm: Log00
RESIDUAL

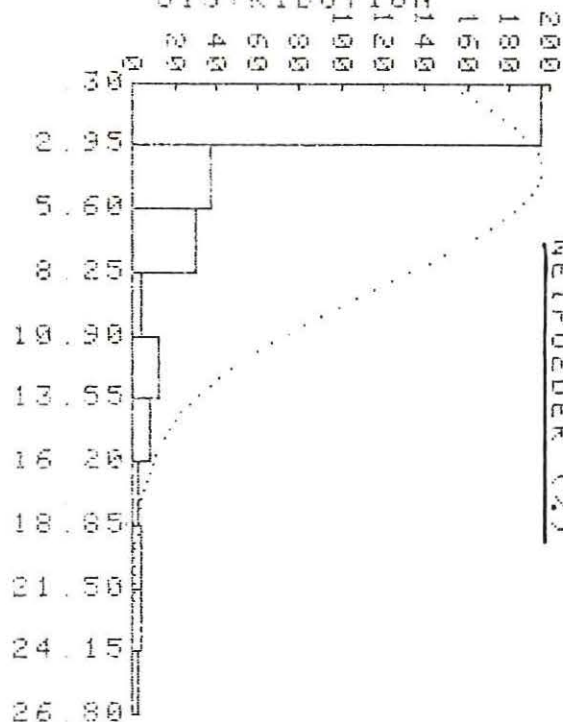


MMP amp (HPLC) WEIPOEDER (%)
Regress'n TAPE #06011 Norm: Log00
DISTRIBUTION



MMP:emp (HPLC) WEIPOEDER (%)
 Regress'n TAPE #06011 Norm:Lo=00

DISTRIBUTION



Frequentie verdeling.
 WEIPOEDER (%)

MMP:emp (HPLC) WEIPOEDER (%)		Regress'n TAPE #06011 Norm:Lo=00	
RCD	SAMPLE I.D.	MANUAL	RESID.
1	#23555	2.80	0.388
2	#23555	2.80	1.341
3	#25761	3.80	0.082
4	#25761	2.80	0.415
5	#25375	3.30	-1.664
6	#25375	3.90	-1.388
7	#26124	6.40	-1.475
8	#26124	6.40	-1.888
9	#26026	4.80	-0.664
10	#26026	4.80	-1.100
11	#26026	4.80	-2.218
12	#26026	4.80	-2.218
13	#26026	4.80	-2.218
14	#26026	4.80	-2.218
15	#26026	4.80	-2.218
16	#26026	4.80	-2.218
17	#13827	0.90	0.848
18	#13827	0.90	0.040
19	#15891	1.00	2.995
20	#0	0.90	2.517
21	#19750	0.90	3.844
22	#19750	0.90	3.522
23	#24113	1.00	-0.525
24	#24113	1.00	-0.689
25	#24867	1.50	2.605
26	#24867	1.50	2.250
27	#26098	1.20	1.217
28	#26098	1.20	0.609
29	#13388	2.00	2.717
30	#13388	2.00	2.002
31	#32560	1.40	0.635
32	#32560	1.40	-0.203
33	#28096	11.50	-5.139
34	#28096	11.50	-4.324
35	#29640	5.30	1.314
36	#29640	5.30	-0.074
37	#25947	1.00	0.579
38	#25947	1.00	-0.543
39	#25948	3.60	0.893
40	#25948	3.60	0.591
41	#25949	6.20	-1.367
42	#25949	6.20	-1.200
43	#25950	11.40	-3.615
44	#25950	11.40	-4.152
45	#13062	1.30	2.184
46	#13062	1.30	3.925
47	#13063	5.30	-1.800
48	#13063	5.30	-1.293
49	#13064	10.80	-2.309
50	#13064	10.80	-2.595

RCD	SAMPLE I.D.	MANUAL	RESID.	RCD	SAMPLE I.D.	MANUAL	RESID.
51	#13069	1.30	-0.706	101	#10258	1.40	-0.691
52	#13069	1.30	-0.514	102	#10258	1.40	0.205
53	#12191	1.10	2.036	103	#10616	1.00	3.190
54	#12191	1.10	2.255	104	#10616	1.00	3.800
55	#13929	0.90	1.140	105	#11502	1.60	-0.626
56	#13929	0.90	3.989	106	#11502	1.60	1.985
57	#14896	1.00	2.885	107	#11666	2.00	3.112
58	#14896	1.00	4.316	108	#11666	2.00	3.116
59	#15120	0.90	0.575	109	#12206	1.20	2.007
60	#15120	0.90	1.677	110	#12206	1.20	3.359
61	#15574	1.00	2.490	111	#17972	1.10	-2.259
62	#15574	1.00	3.693	112	#17972	1.10	-0.898
63	#17502	1.10	4.353	113	#18327	0.80	1.614
64	#17502	1.10	3.933	114	#18327	0.80	2.238
65	#17506	1.00	4.217	115	#20289	1.10	3.416
66	#17506	1.00	3.278	116	#20289	1.10	4.702
67	#17531	0.80	3.001	117	#25140	1.10	0.374
68	#17531	0.80	1.713	118	#25140	1.10	2.190
69	#18325	0.90	2.187	119	#25425	1.20	-0.725
70	#18325	0.90	1.798	120	#25425	1.20	1.806
71	#20035	0.90	1.938	121	#26931	1.10	-0.332
72	#20035	0.90	0.357	122	#26931	1.10	0.489
73	#20627	0.90	2.024	123	#27682	1.10	-0.331
74	#20627	0.90	1.310	124	#27682	1.10	1.582
75	#21486	0.90	2.074	125	#28431	1.20	-2.171
76	#21486	0.90	0.971	126	#28431	1.20	-0.594
77	#22509	1.00	3.082	127	#29072	1.30	0.856
78	#22509	1.00	2.403	128	#29072	1.30	1.848
79	#22948	0.90	1.024	129	#30674	1.20	-2.053
80	#22948	0.90	5.253	130	#30674	1.20	-2.563
81	#23174	1.00	-0.360	131	#31155	2.00	-8.403
82	#23174	1.00	0.773	132	#31155	2.00	-9.735
83	#23606	0.90	-1.320	133	#13065	23.10	1.182
84	#23606	0.90	0.582	134	#13065	23.10	1.325
85	#24482	1.00	-0.500	135	#13066	1.20	-1.183
86	#24482	1.00	2.491	136	#13066	1.20	-0.608
87	#25317	1.00	-1.124	137	#13067	1.20	2.769
88	#25317	1.00	0.348	138	#13067	1.20	3.542
89	#26310	1.00	1.510	139	#13068	1.00	2.638
90	#26310	1.00	1.969	140	#13068	1.00	2.607
91	#26651	1.10	0.284	141	#259472591	21.90	-11.225
92	#26651	1.10	2.167	142	#259472591	21.90	-12.314
93	#27443	1.10	0.691	143	#744325951	6.30	-3.406
94	#27443	1.10	1.975	144	#744325951	6.30	-2.652
95	#28145	1.10	-0.570	145	#61625951	7.20	-1.340
96	#28145	1.10	-0.210	146	#61625951	7.20	-0.644
97	#28829	1.20	-0.773	147	#18327951	11.40	-4.511
98	#28829	1.20	0.350	148	#18327951	11.40	-4.738
99	#32377	1.00	-0.994	149	#15885	12.90	-4.097
100	#32377	1.00	1.558	150	#15885	12.90	-3.814

RCD	SAMPLE I.D.	MANUAL	RESID.	RCD	SAMPLE I.D.	MANUAL	RESID.
151	#14741	8.70	-1.532	201	#14977	1.30	-0.198
152	#14741	8.70	-1.616	202	#14977	1.30	-0.563
153	#16060	1.30	2.760	203	#14978	1.60	3.581
154	#16060	1.30	2.704	204	#14978	1.60	3.757
155	#16061	17.90	-8.793	205	#14979	1.20	3.298
156	#16061	17.90	-11.310	206	#14979	1.20	2.745
157	#32382	2.70	2.205	207	#14980	1.60	3.664
158	#32382	2.70	0.204	208	#14980	1.60	2.917
159	#16365	6.30	-0.587	209	#14981	1.80	0.969
160	#16365	6.30	-1.787	210	#14981	1.80	-0.149
161	#12673	10.90	-12.477	211	#14982	0.30	1.857
162	#12673	10.90	-12.724	212	#14982	0.30	1.538
163	#32651	0.90	3.830	213	#18924	1.00	3.854
164	#32651	0.90	2.849	214	#18924	1.00	4.077
165	#14115	1.30	4.195	215	#18925	1.00	3.138
166	#14115	1.30	4.225	216	#18925	1.00	2.569
167	#14116	1.30	3.909	217	#18926	1.20	0.997
168	#14116	1.30	2.066	218	#18926	1.20	2.477
169	#14389	5.90	0.535	219	#18927	3.50	-0.153
170	#14389	5.90	-0.478	220	#18927	3.50	-0.053
171	#14390	3.70	2.206	221	#18930	1.40	-0.689
172	#14390	3.70	1.406	222	#18930	1.40	-0.026
173	#13280	5.70	-0.559	223	#18931	1.20	2.693
174	#13280	5.70	-1.256	224	#18931	1.20	2.392
175	#14962	1.30	3.474	225	#11655	2.30	-1.051
176	#14962	1.30	6.907	226	#11655	2.30	-1.465
177	#14963	1.60	2.993	227	#11656	6.20	-1.125
178	#14963	1.60	2.958	228	#11656	6.20	-1.672
179	#14964	1.30	2.146	229	#11657	4.20	-1.734
180	#14964	1.30	3.578	230	#11657	4.20	-1.368
181	#14965	2.60	1.681	231	#11658	3.30	-0.940
182	#14965	2.60	3.429	232	#11658	3.30	-0.973
183	#14967	1.50	2.303	233	#11659	1.90	-0.216
184	#14967	1.50	2.357	234	#11659	1.90	-1.604
185	#14968	1.50	2.275	235	#11660	2.70	0.624
186	#14968	1.50	2.538	236	#11660	2.70	-0.723
187	#14969	1.50	4.510	237	#15937	0.70	-0.664
188	#14969	1.50	4.111	238	#15937	0.70	-1.058
189	#14971	7.20	-2.503	239	#15938	1.40	-0.528
190	#14971	7.20	-2.110	240	#15938	1.40	-0.419
191	#14972	2.20	1.268	241	#15939	1.60	-3.212
192	#14972	2.20	1.052	242	#15939	1.60	-2.631
193	#14973	1.50	2.581	243	#15940	1.90	-0.808
194	#14973	1.50	2.151	244	#15940	1.90	-0.629
195	#14974	1.90	1.604	245	#15941	2.10	1.971
196	#14974	1.90	2.462	246	#15941	2.10	0.506
197	#14975	1.30	0.397	247	#15975	12.10	-0.314
198	#14975	1.30	0.832	248	#15975	12.10	-1.219
199	#14976	2.10	2.876	249	#15976	26.80	-16.243
200	#14976	2.10	2.689	250	#15976	26.80	-15.675

RCD	SAMPLE I.D.	MANUAL	RESID.
251	#17126	20.40	-17.039
252	#17126	20.40	-15.637
253	#17214	1.40	-0.879
254	#17214	1.40	-1.075
255	21944	15.60	-7.605
256	21944	15.60	-7.291
257	21942	1.40	0.231
258	21942	1.40	0.272
259	21943	15.90	-7.417
260	21943	15.90	-7.990
261	20806	19.20	-14.995
262	20806	19.20	-14.811
263	20324	16.10	-5.765
264	20324	16.10	-6.334
265	21672	7.00	0.395
266	21672	7.00	2.000
267	20808	14.90	-7.786
268	20808	14.90	-10.333
269	21689	2.10	3.826
270	21689	2.10	3.901
271	20325	5.60	2.618
272	20325	5.60	1.738
273	20789	3.00	-0.087
274	20789	3.00	0.978
275	20787	6.40	0.289
276	20787	6.40	1.057
277	20790	5.60	-0.913
278	20790	5.60	-0.440
279	20792	3.60	1.494
280	20792	3.60	3.125
281	20793	3.00	1.424
282	20793	3.00	2.055
283	20791	2.50	1.248
284	20791	2.50	2.013
285	20788	3.10	0.148
286	20788	3.10	1.625
287	20785	7.70	-2.282
288	20785	7.70	-0.536
289	20784	4.20	0.979
290	20784	4.20	2.440
291	20794	6.60	0.969
292	20794	6.60	3.027
293	20786	2.20	2.604
294	20786	2.20	3.105
295	21085	3.50	0.183
296	21085	3.50	1.045
297	21086	2.20	3.068
298	21086	2.20	4.726
299	21087	4.80	4.365
300	21087	4.80	4.395

BIJLAGE 2.

Filter Selection

2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17
18	19	20					

Constituent Selection

WEIPOEDER (%) GLYCOMACROPEP. %

300 Records Selected

ALL RECORDS

Copying to begin at Record 1

REGRESSION ANALYSIS

Constituent: GLYCOMACROPEP. %

Normalizing Filter: None

Filter Selection

2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17
18	19	20					

Note: 22 records assigned no GLYCOMACROPEP. % values

MMP amp (HPLC) TAPE #06011
CONTAINS 300 VALID DATA RECORDS

19 Predictor Variables and
300 Records included

MMP amp (HPLC) GLYCOMACROPEP. %
Regress'n TAPE #06011 Norm: Log00

MULTIPLE CORRELAT'N (R²) 0.3223

STANDARD ERROR 0.0705

INDEX SYSTEM ERROR -1.6790

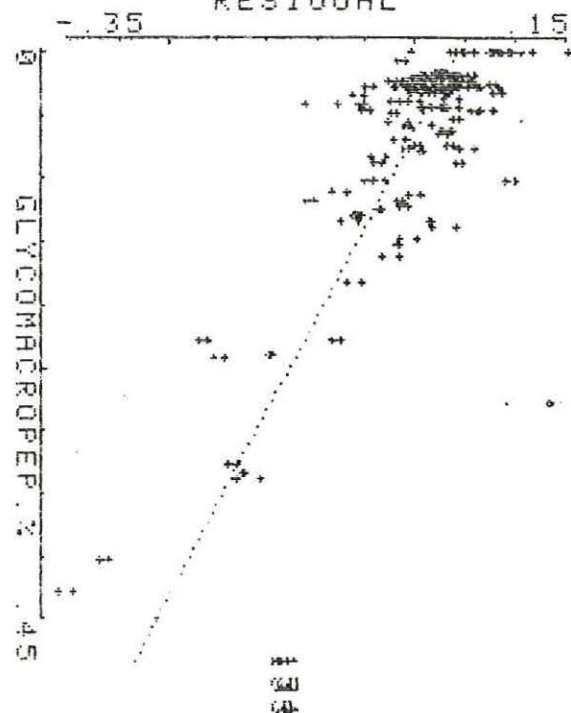
COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	0.174	1.42
FILTER F02	-36.283	1.28
FILTER F03	47.840	2.11
FILTER F04	-52.363	3.65
FILTER F05	39.407	2.53
FILTER F06	41.650	2.75
FILTER F07	2.917	0.11
FILTER F08	-188.818	2.69
FILTER F09	60.681	2.72
FILTER F10	123.840	2.08
FILTER F11	-3.049	0.48
FILTER F12	-139.986	3.16
FILTER F13	214.108	2.51
FILTER F14	-37.800	2.05
FILTER F15	-71.590	0.88
FILTER F16	-0.614	0.13
FILTER F17	84.973	2.37
FILTER F18	-53.173	1.26
FILTER F19	-0.723	0.18
FILTER F20	-32.698	3.61

RESIDUAL STD. DEV. (σ) 0.0682

CORRELATION COEFF. (R) 0.5678

REGRESSION F-RATIO 7.0101

MMP amp (HPLC) GLYCOMACROPEP. %
Regress'n TAPE #06011 Norm: Log00
RESIDUAL



Constituent: GLYCOMACROPEP.%

Normalizing Filter: None

Filter Selection

2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17
18	19	20					

REGRESSION ANALYSIS

Constituent: GLYCOMACROPEP.%

Filter Selection

included in search

2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17
18	19	20					

2 Records deleted

133 134

Initial Search Model Size: 2

Final Search Model Size: 4

Print 1 Best Sets

Model Size: 2

Records Included: 298

MMP amp (HPLC) GLYCOMACROPEP.%
Best Sets TAPE #06011 Norm:Log00

COEFFICIENT	VALUE
BIAS F00	-0.028
FILTER F19	-2.680
FILTER F20	3.079

MULTIPLE CORRELAT'N (R²) 0.0514

REGRESSION F-RATIO 7.9992

Model Size: 3
Records Included: 298MMP amp (HPLC) GLYCOMACROPEP.%
Best Sets TAPE #06011 Norm:Log00

COEFFICIENT	VALUE
BIAS F00	-0.061
FILTER F15	24.792
FILTER F17	-19.447
FILTER F19	-4.906

MULTIPLE CORRELAT'N (R²) 0.0874

REGRESSION F-RATIO 9.3831

Model Size: 4
Records Included: 298MMP amp (HPLC) GLYCOMACROPEP.%
Best Sets TAPE #06011 Norm:Log00

COEFFICIENT	VALUE
BIAS F00	0.033
FILTER F05	-7.803
FILTER F09	7.837
FILTER F18	6.141
FILTER F19	-5.744

MULTIPLE CORRELAT'N (R²) 0.1353

REGRESSION F-RATIO 11.4634

Constituent: WEIPOEDER (%)

Filter Selection
included in search

2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17
18	19	20					

Initial Search Model Size: 2

Final Search Model Size: 2

Print 1 Best Sets

Model Size: 2
Records Included: 300MMP amp (HPLC) WEIPOEDER (%)
Best Sets TAPE #06011 Norm:Log00

COEFFICIENT	VALUE
BIAS F00	9.976
FILTER F09	798.770
FILTER F10	-819.000

MULTIPLE CORRELAT'N (R²) 0.1284

REGRESSION F-RATIO 21.8744

Constituent: GLYCOMACROPEP.%

Filter Selection

2	6	8	9	10	11	12	13
14	17	18	20				

13 records ignored

5	11	13	15	24	25	26	27
28	36	39	40	42			

12 Regression Variables and
31 Records included

MMP gmp (HPLC) GLYCOMACROPEP.%
----- TAPE #42286 -----

COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	2.704	19.91
FILTER F02	-93.288	7.97
FILTER F06	73.172	5.79
FILTER F08	638.620	10.16
FILTER F09	235.330	15.55
FILTER F10	-672.710	9.01
FILTER F11	-36.589	17.97
FILTER F12	-836.890	20.35
FILTER F13	1434.100	25.71
FILTER F14	-159.330	18.91
FILTER F17	798.740	13.53
FILTER F18	-1018.000	17.17
FILTER F20	-396.600	9.73

RESIDUAL STD. DEV. 0.0200

CORRELATION COEFF. 0.9912

REGRESSION F-RATIO 84.1937

INDEX SYSTEM ERROR -33.4450

