

VERSLAG VAN HET 2E INTERLABORATORIUMONDERZOEK BEPALING VAN LEBWEI-  
BESTANDELEN MET BEHULP VAN REVERSED PHASE HOGEPRESTATIEVLOEISTOF-  
CHROMATOGRAFIE

Rapport 88.81

dr ir C. Olieman, NIZO - Ede  
A.M.J. Sledsens, RIKILT - Wageningen

November 1988

lebwei.0

## 1 INLEIDING

Met brief nr. 0587 van het RIKILT dd. 1988-02-16 werden de resultaten verzonden van de "proefronde" bepaling van lebweibestanddelen met behulp van reversed phase hogeprestatievloeistofchromatografie (RP HPLC). Uit dat onderzoek bleek dat alle deelnemende laboratoria in staat moesten worden geacht lebweibestanddelen in melkpoeders te kunnen bepalen met behulp van RP HPLC. Daarom werd besloten een tweede interlaboratoriumonderzoek te houden ter vaststelling van de precisie (herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid) van de methode.

## 2 PROEFPLAN EN METHODE VAN ONDERZOEK

Zowel door het NIZO als door het RIKILT werden vijf monsters bereid. De monsters werden als blinde duplo's aan de deelnemende laboratoria aangeboden. De hoeveelheid monstermateriaal was juist voldoende voor het uitvoeren van één volledige bepaling van het gehalte aan lebweibestanddelen met behulp van reversed phase hogeprestatievloeistofchromatografie. Om de onafhankelijkheid van de analyses te waarborgen werden de monsters voor ieder laboratorium afzonderlijk willekeurig genummerd van 1 tot en met 20. Aan de deelnemers werd verzocht de monsters in enkelvoud te analyseren, strikt volgens het meegezonden voorschrift van Olieman "Bepaling van lebwei met RP HPLC", versie 1.1 dd. 23-2-1988 (zie ook brief RIKILT nr. 1590 dd. 1988-04-21).

## 3 DEELNEMERS

In alfabetische volgorde, niet overeenkomend met het laboratoriumvolgordenummer:

- |                  |             |
|------------------|-------------|
| - Alpuro         | Uddel       |
| - CC Friesland   | Leeuwarden  |
| - COZ            | Leusden     |
| - Denkavit       | Voorthuizen |
| - DMV Campina    | Veghel      |
| - Lab. Min. Fin. | Amsterdam   |
| - Navobi         | Elspeet     |
| - NIZO           | Ede         |
| - RIKILT         | Wageningen  |
| - Schils         | Sittard     |

- Trouw Int. Putten
- Trouw Ned. Putten

In bovenstaande lijst is uw laboratoriumnummer aangegeven.

#### 4 ANALYSEMATERIAAL

##### 4.1 Monsters bereid door het RIKILT

- De gebruikte magere melkpoeder (M) was van Nederlands fabrikaat en van extra-kwaliteit.
- De karnemelkpoeder (K) was eveneens van Nederlands fabrikaat.
- De wei poeder was beschikbaar gesteld door het COZ te Leusden. Door het COZ werd aan het standaardmonster Ni-0 5% van dit wei poeder toegevoegd en daarna het gehalte aan wei poeder bepaald met behulp van RP HPLC ten opzichte van de standaard Ni-4,6. Het verkregen resultaat was 5,5% wei poeder, zodat theoretisch in de mengsels met RP HPLC 1,1 maal zoveel weibestanddelen moet worden gevonden als in de praktijk is gebruikt.

De mengsels werden bereid door bekende hoeveelheden melkpoeder en bekende hoeveelheden wei poeder op te lossen in water en deze oplossingen vervolgens te vriesdrogen. Hierna werden de monsters in een mortier fijn gemaakt.

##### 4.2 Monsters bereid door het NIZO

- Karnemelkpoeder (A) werd op NIZO bereid uit ondermelk door verzuring met een A zuursel (20°C, 20 uur). Het produkt werd vervolgens gevriesdroogd.
- Karnemelkpoeder (S) werd op NIZO bereid uit ondermelk door verzuring (20°C, 20 uur) met een zuursel afkomstig uit Schotland (Dr. Davies, West of Scotland Agricultural College). Het produkt werd vervolgens gevriesdroogd. Dit zuursel geeft aanleiding tot de vorming van 'pseudo-GMP'. Deze component is zeer nauw verwant met GMP (het eindstandige aminozuur methionine ontbreekt) en elueert dien overeenkomstig zeer in de nabijheid van de GMP-piek. Ook karnemelkpoeder (A) bevat deze component, zij het in geringere mate.
- Wei was afkomstig van NIZO (reguliere kaasproductie).

Mengsels van karnemelk (A) respectievelijk (S) met wei werden bereid door deze in de juiste verhoudingen (m/m) te mengen met wei, nadat de droge stof gehalten waren bepaald. Vervolgens werden deze mengsels gevriesdroogd.

Alle gevriesdroogde producten werden met een mortier fijn gemaakt.

In onderstaande tabel is aangegeven hoe de door u ontvangen monsters waren gecodeerd.

Monster	Codenummer
M : melkpoeder (M)	en
M + 0,75: melkpoeder (M) + 0,75% weipoeder	en
M + 1,25: melkpoeder (M) + 1,25% weipoeder	en
K : karnemelkpoeder (K)	en
K + 2,5 : karnemelkpoeder (K) + 2,5% weipoeder	en
A : karnemelkpoeder (A)	en
A + 1,5 : karnemelkpoeder (A) + 1,5% weipoeder	en
S : karnemelkpoeder (S)	en
S + 1,5 : karnemelkpoeder (S) + 1,5% weipoeder	en
S + 3,0 : karnemelkpoeder (S) + 3,0% weipoeder	en

## 5 RESULTATEN

Alle resultaten van de deelnemende laboratoria zijn gecontroleerd met betrekking tot de retentietijden van de pieken van de monsters in relatie tot die van het standaardmonster, waarbij zo nodig ook gecorrigeerd werd voor drift in de retentietijd van GMP van het standaardmonster (deze controle was voor één lab niet mogelijk door het ontbreken van retentietijden). In tabel 1 vindt u de resultaten.

In tabel 2 zijn de vals-positieve resultaten ( $\geq 1\%$ ) weergegeven. Het aantal vals-positieve resultaten is onaanvaardbaar hoog. Een verklaring wordt onder "6 Opmerkingen en conclusies" gegeven.

De vals-negatieve resultaten staan vermeld in tabel 3. In afwijking van het voorschrift is ten behoeve van het onderzoek een vals-negatief resultaat op een niveau van 0% vastgesteld. In de praktijk zou dus voor het monster M+0,75 een negatief resultaat (antwoord  $< 1\%$ ) worden verkregen.

De resultaten van de monsters S+1,5 en S+3 zijn niet in deze tabel opgenomen, omdat de scheiding tussen de GMP-piek en de 'pseudo-GMP' piek bij deze piekverhoudingen onvoldoende is. Enkele lab's hebben hier een positief resultaat verkregen, maar in feite hebben zij 'pseudo-GMP' bepaald, zoals bleek uit hun chromatogrammen. Er werden gehalten van meer dan 10% wei gevonden (zie tabel 1).

Tabel 4 bevat de resultaten voor de herhaalbaarheid en de reproduceerbaarheid, nadat de vals-negatieve uitkomsten waren verwijderd (dit is eigenlijk niet geoorloofd, maar het te grote aantal vals-negatieve resultaten zou het resultaat te zeer vertekenen). De bijbehorende statistische verwerking vindt u in de bijlage.

#### 6 OPMERKINGEN EN CONCLUSIES

Het grote aantal vals-positieve en vals-negatieve uitslagen werd veroorzaakt door:

1. Het toepassen van een te steile gradiënt, waardoor de resolutie tussen de pieken afneemt. Dit geeft aanleiding tot vals-positieve resultaten, met name bij de karnemelkpoeders (A) en (S), omdat de piek van het 'pseudo-GMP' voor 'GMP' wordt aangezien.
2. Onvoldoende herhaalbaarheid van de retentietijd van GMP, hetgeen leidt tot vals-negatieve resultaten. De meest voorkomende oorzaak is ongetwijfeld het onvoldoend ontgast zijn van het eluens. Met name pompsystemen die gebruik maken van gradiëntvorming aan de lage drukzijde van het systeem, zijn bijzonder gevoelig voor de aanwezigheid van teveel lucht in het eluens. Ook de kwaliteit van het gradiëntpomp-systeem kan een rol spelen, maar in veel gevallen zal sprake zijn van niet goed werkende in- en uitlaatkleppen (veroorzaakt door vervuiling en/of slijtage) en lekkende pompseals. Ook lekkage in andere delen van het systeem, zoals de injector kunnen verantwoordelijk zijn voor te grote schommelingen in de retentietijd van GMP.

N.B. De resolutie tussen 'pseudo-GMP' en GMP is met de Protein Plus kolom (DuPont) groter dan die verkregen wordt met de Beckman kolom. De tolerantie in de retentietijden mag bij de Protein Plus kolom groter zijn (0,2 min). Dit leidt vermoedelijk tot betere resultaten.

Conclusie: De methode kan niet worden gevalideerd. Een herhaling van het ringonderzoek is noodzakelijk, waarbij de deelnemers zoveel mogelijk gebruik zouden moeten maken van de Protein Plus kolom.

Tabel 1.

Lab	M		M+0,75		M+1,25		K		K+2,5	
1	0,4	0	0,7	1,1	0	0	2,0	0	3,1	4,4
2	0	0	0	0	1,3	1,26	0	0	2,92	3,05
3	0	0	0	1,55	1,97	1,96	0	0	0	3,95
4	0	0	0,6	0,6	1,1	1,0	0	0	2,8	2,2
5	0	0	0	0	1,03	1,45	0	0	0	3,05
6	0	0	0,84	0,9	1,38	1,24	0	0	3,28	3,43
7	0	0	0,86	0,93	1,07	1,14	0	0	2,73	2,2
8	0	0	0,89	0,86	1,34	1,43	0,84	0	3,9	3,53
9	0	0	0	0,44	0	1,19	0	0	0	3,31
10	0	0	0,73	0	1,32	0	0	0	2,97	0
11	0	0	0,7	0,7	1,14	1,31	0	0	2,23	2,14
12	0	0	0,78	0,8	1,39	1,42	1,11	0	2,72	2,78
Gemiddelde			0,58		1,10				2,53	

Lab	A		A+1,5		S		S+1,5		S+3	
1	1,5	0	2,4	1,6	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	3,31	0	0	0	0	0	0	0
4	1,4	0	1,3	0	12	12,8	13	12,6	0	12,2
5	0	0	1,81	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	2,49	2	3,11	2,37	0	0	14,6	0	13,94	11,45
9	0	0	0	0	0	0	x	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	1,58	1,48	0	0	0	0	0	0
12	1,96	0	1,39	2,35	0	0	11,5	0	11,7	0
Gemiddelde			0,95							

Tabel 2.

Lab	M	K	A	S
1	-	*	*	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	*	**
5	-	-	-	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	-	**	-
9	-	-	*	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	*	*	-
Totaal	0	2	6	2

Tabel 3.

M+0,75	M+1,25	K+2,5	A+1,5	Totaal
-	**	-	-	4
**	-	-	**	4
*	-	*	*	3
-	-	-	*	4
**	-	*	*	4
-	-	-	**	2
-	-	-	**	2
-	-	-	-	2
*	*	*	**	6
*	*	*	**	5
-	-	-	-	0
-	-	-	-	2
7	4	4	13	38

\* = 1x vals-positief (>1%)  
 \*\* = 2x vals-positief (>1%)

\* = 1x vals-negatief (0%)  
 \*\* = 2x vals-negatief (0%)

Tabel 4. (excl. vals-negatieven en uitbijters volgens Cochran en/of Dixon)

	M+0,75	M+1,25	K+2,5	A+1,5
Gemiddelde	0,76	1,32	3,04	2,06
Herhaalbaarheid (% wei, m/m)	0,08	0,33	1,12	1,46
Reproduceerbaarheid (% wei, m/m)	0,41	0,75	1,76	2,00

**melkpoeder**

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	0.40	0.00	0.200	0.400
2	0.00	0.00	0.000	0.000
3	0.00	0.00	0.000	0.000
4	0.00	0.00	0.000	0.000
5	0.00	0.00	0.000	0.000
6	0.00	0.00	0.000	0.000
7	0.00	0.00	0.000	0.000
8	0.00	0.00	0.000	0.000
9	0.00	0.00	0.000	0.000
10	0.00	0.00	0.000	0.000
11	0.00	0.00	0.000	0.000
12	0.00	0.00	0.000	0.000

( )

Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 0.017

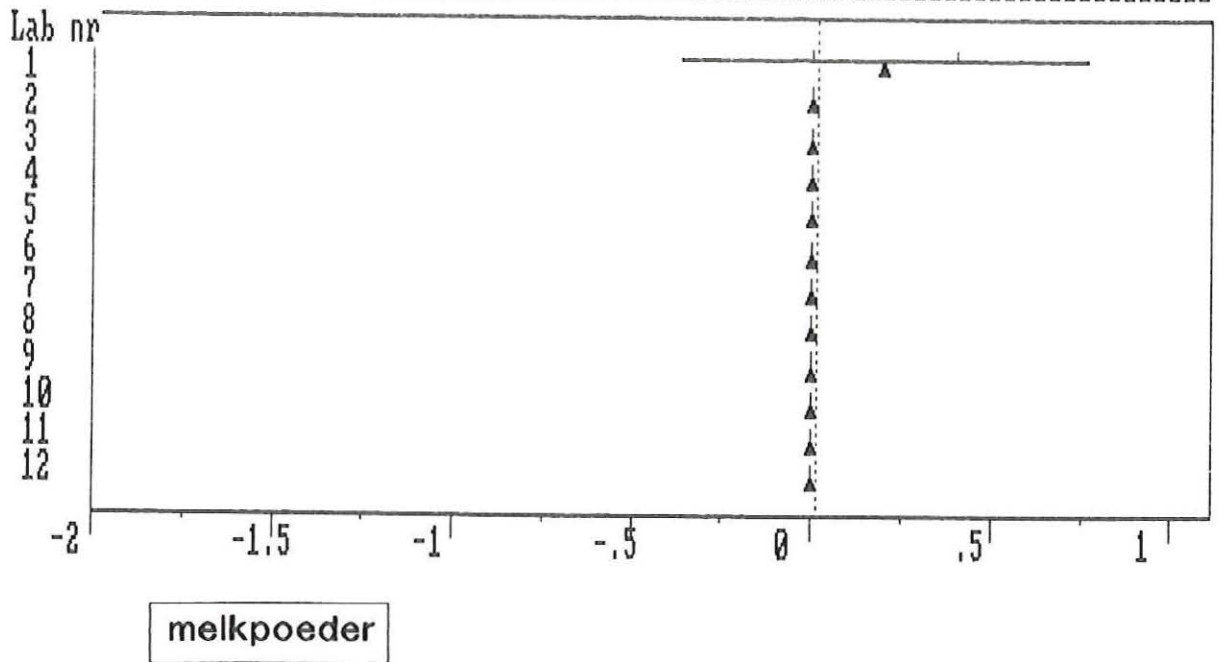
REPEATABILITY	0.231	REPRODUCIBILITY	0.231		
SD rep.	0.082	SD repr.	0.082	SD betw. labs	0.000
CV rep.	489.898%	CV repr.	489.898%	CV betw. labs	0.09%

%

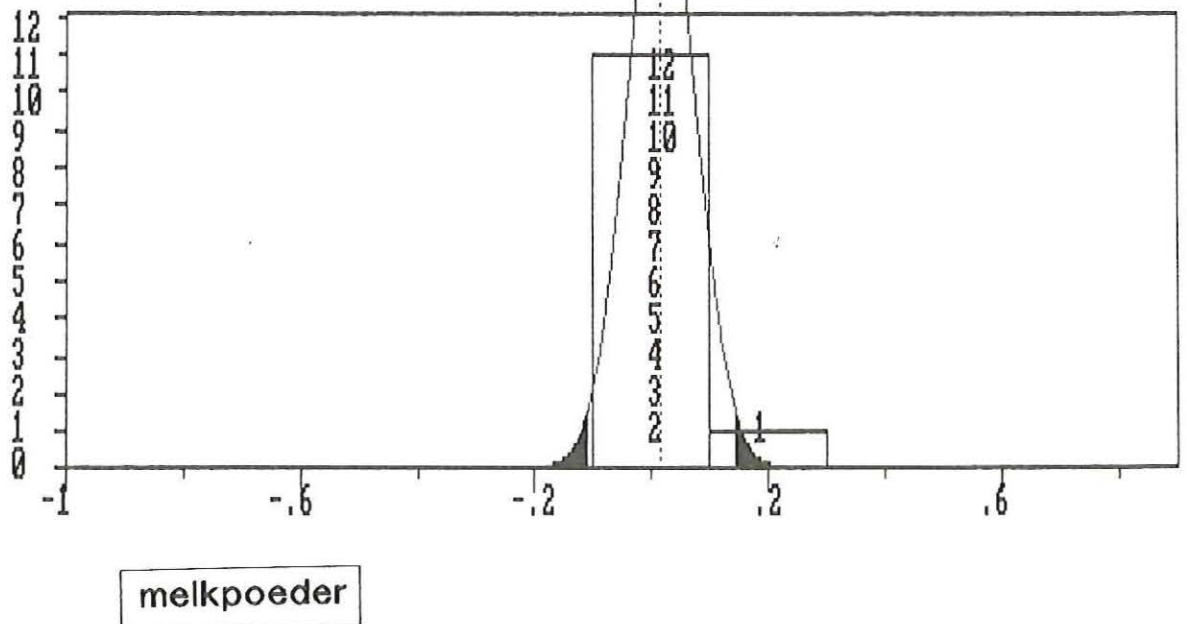
Tests	:	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:		0.541	0.653	1.000	1	Outlier
Dixon	:		0.479	0.579		1	Outlier



Graph of the results and lab-means, with indication of the mean of the results (each horizontal line represents lab mean  $\pm 2 \times$  standard deviation)



Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution (the shaded areas comprise 5% of the total area)



**melkpoeder + 0,75% weip.**

Lab nr	Results	Mean	Difference
1	0.70	1.10	0.400
2	0.00	0.00	0.000
3	0.00	1.55	1.550
4	0.60	0.60	0.000
5	0.00	0.00	0.000
6	0.84	0.90	0.060
7	0.86	0.93	0.070
8	0.89	0.86	0.030
9	0.00	0.44	0.440
10	0.73	0.00	0.730
11	0.70	0.70	0.000
12	0.78	0.80	0.020

( )

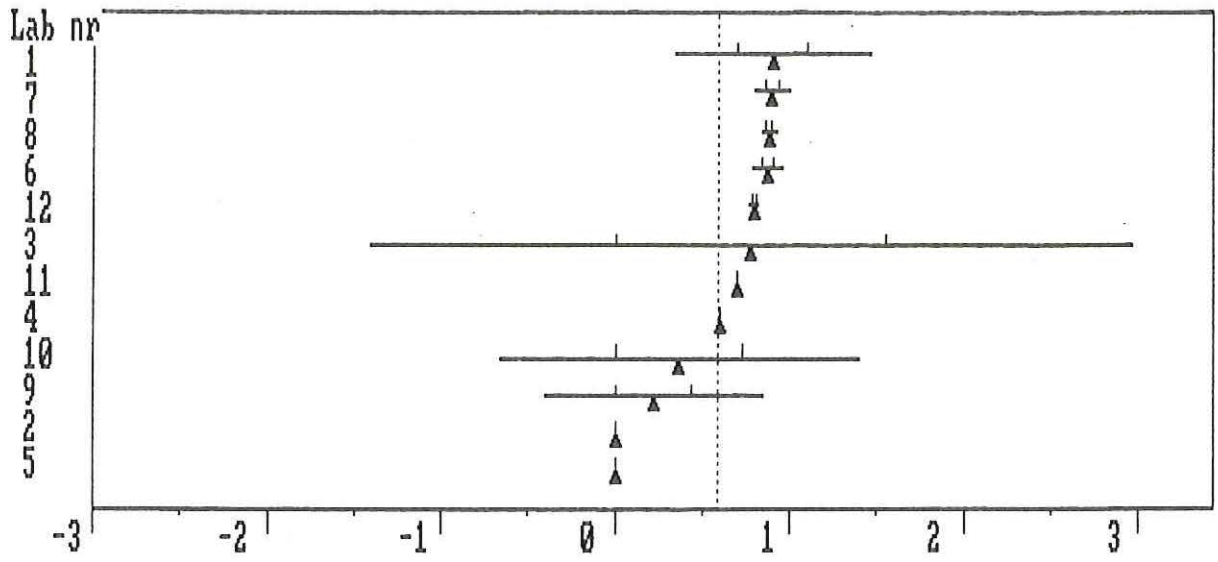
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 0.583

REPEATABILITY	1.049	REPRODUCIBILITY	1.228		
SD rep.	0.371	SD repr.	0.434	SD betw. labs	0.226
CV rep.	63.647%	CV repr.	74.547%	CV betw. labs	38.813

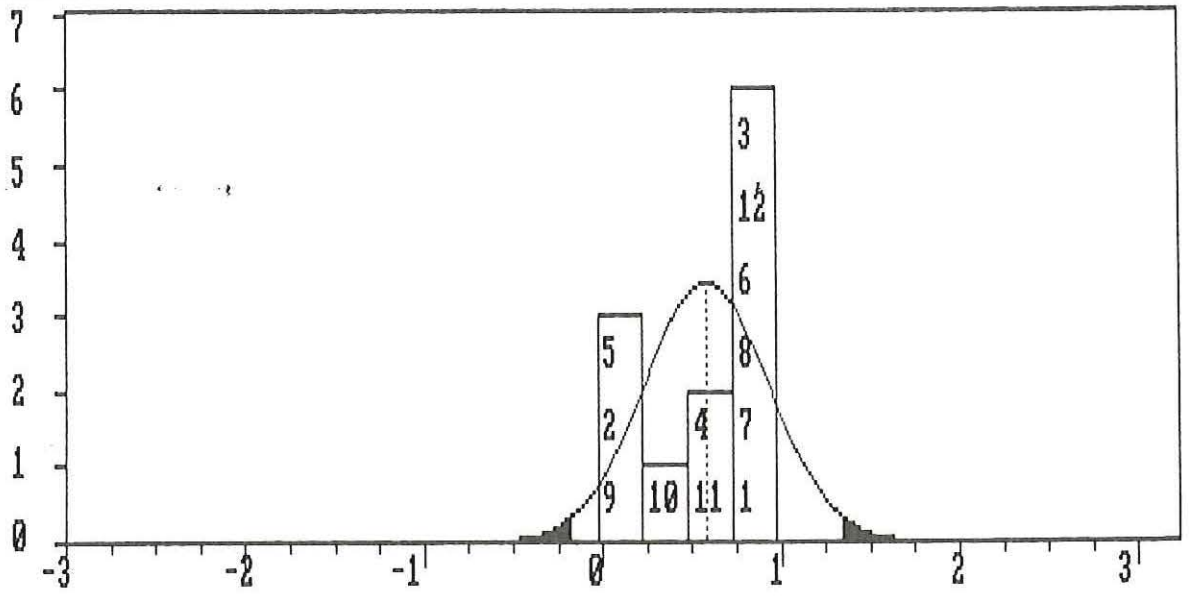
Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:	0.541	0.653	0.728	3	Outlier
( )	:					
Dixon	:	0.479	0.579	0.000	5	NO OUTLIER
	:			0.006	1	NO OUTLIER

Graph of the results and lab-means, with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm 2$  \* standard deviation)



melkpoeder + 0,75% weip.

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



melkpoeder + 0,75% weip.

Excl.  
Lab. 3

**melkpoeder + 0,75% weip.**

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	0.70	1.10	0.900	0.400
2	0.00	0.00	0.000	0.000
4	0.60	0.60	0.600	0.000
5	0.00	0.00	0.000	0.000
6	0.84	0.90	0.870	0.060
7	0.86	0.93	0.895	0.070
8	0.89	0.86	0.875	0.030
9	0.00	0.44	0.220	0.440
10	0.73	0.00	0.365	0.730
11	0.70	0.70	0.700	0.000
12	0.78	0.80	0.790	0.020

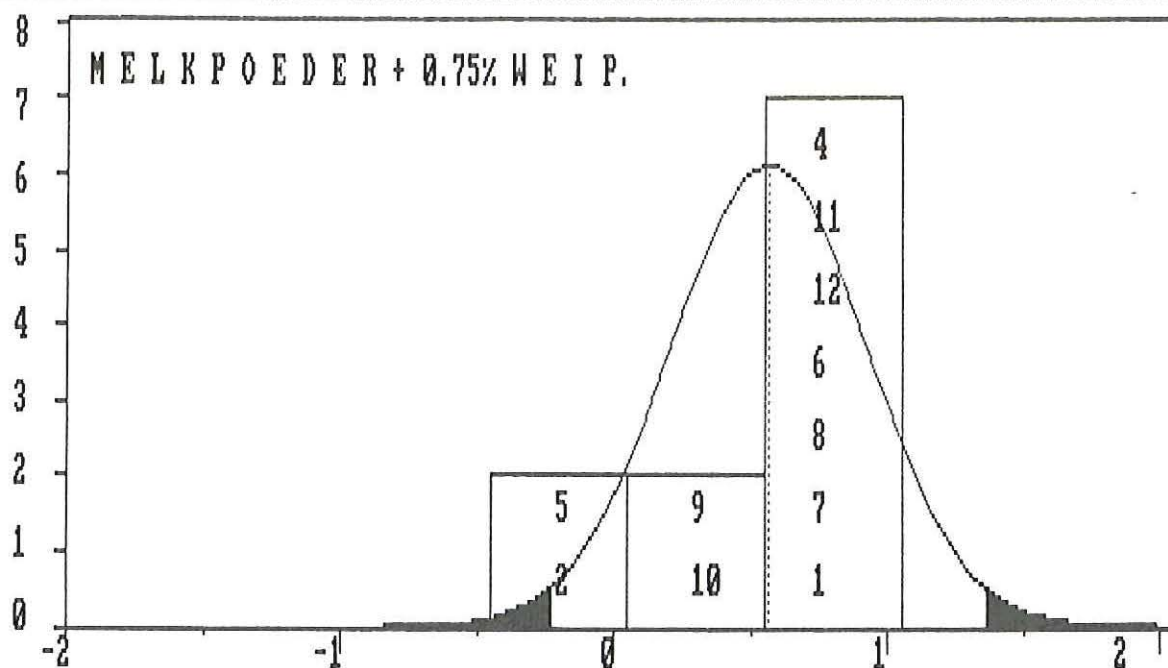
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 11 labs : 0.565

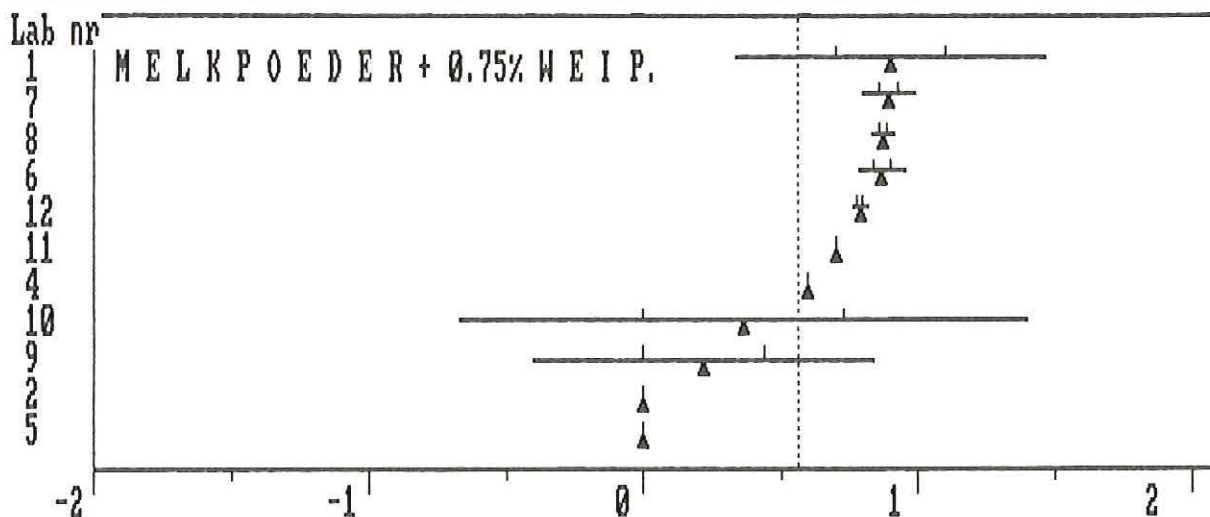
REPEATABILITY	0.571	REPRODUCIBILITY	1.089		
SD rep.	0.202	SD repr.	0.385	SD betw. labs	0.32
CV rep.	35.725%	CV repr.	68.124%	CV betw. labs	58.00%

Tests	:	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:		0.570	0.684	0.595	10	Straggler
Dixon	:		0.502	0.605	0.246	2	NO OUTLIER
	:				0.007	1	NO OUTLIER

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



Graph of the results and lab-means , with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm 2 * \text{standard deviation}$ )



excl. vals negatieve.

RP-HPLC Rennet Whey Determination

melkpoeder + 0.75% weip.

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	0.70	1.10	0.900	0.400
3	1.55		1.550	0.000
4	0.60	0.60	0.600	0.000
6	0.84	0.90	0.870	0.060
7	0.86	0.93	0.895	0.070
8	0.89	0.86	0.875	0.030
9	0.44		0.440	0.000
10	0.73		0.730	0.000
11	0.70	0.70	0.700	0.000
12	0.78	0.80	0.790	0.020

Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 10 labs : 0.822

REPEATABILITY	0.311	REPRODUCIBILITY	0.697		
SD rep.	0.110	SD repr.	0.247	SD betw. labs	0.221
CV rep.	13.392%	CV repr.	29.984%	CV betw. labs	26.827%

Tests	:	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:		0.727	0.838	0.942	1	Outlier
	:						
Dixon	:		0.569	0.680	0.348	9	NO OUTLIER
	:				0.684	3	Outlier

excl. vals negatieven en lab. 1 en 3

RP-HPLC Rennet Whey Determination

melkpoeder + 0.75% weip.

Lab nr	Results		Mean	Difference
4	0.60	0.60	0.600	0.000
6	0.84	0.90	0.870	0.060
7	0.86	0.93	0.895	0.070
8	0.89	0.86	0.875	0.030
9	0.44		0.440	0.000
10	0.73		0.730	0.000
11	0.70	0.70	0.700	0.000
12	0.78	0.80	0.790	0.020

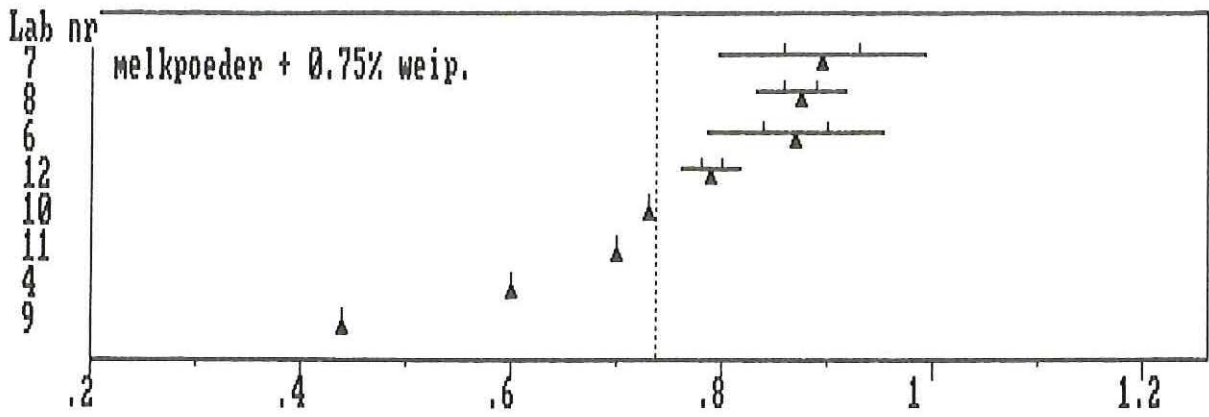
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 8 labs : 0.759

REPEATABILITY	0.081	REPRODUCIBILITY	0.410		
SD rep.	0.029	SD repr.	0.145	SD betw. labs	0.142
CV rep.	3.764%	CV repr.	19.078%	CV betw. labs	18.703%

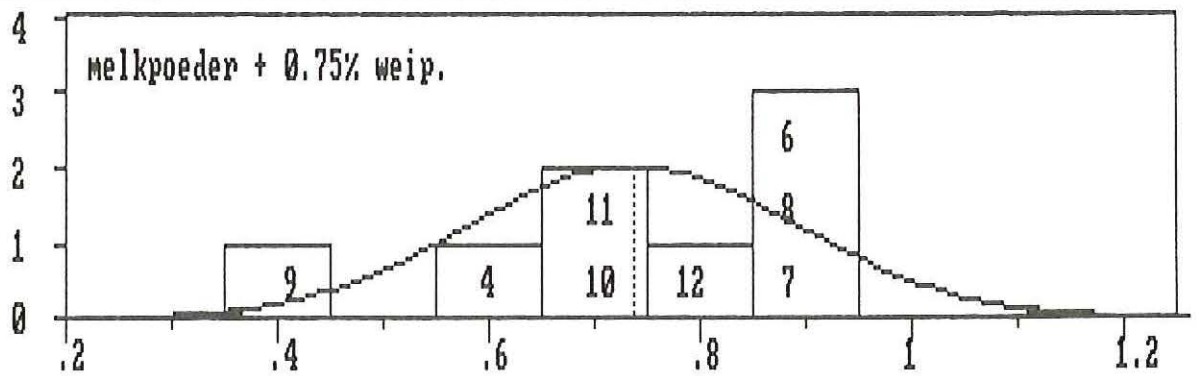
Tests	:	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:		0.781	0.883	0.500	7	NO OUTLIER
Dixon	:		0.628	0.740	0.368	9	NO OUTLIER
	:				0.068	7	NO OUTLIER

Graph of the results and lab-means, with indication of the mean of the results  
(each horizontal line represents lab mean  $\pm 2$  \* standard deviation)



excl. vals negatieven en lab. 1 en 3

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
( the shaded areas comprise 5% of the total area )



excl. vals negatieven en lab. 1 en 3



RP-HPLC Rennet Whey Determination

**melkpoeder + 1,25% weip.**

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	0.00	0.00	0.000	0.000
2	1.30	1.26	1.280	0.040
3	1.97	1.96	1.965	0.010
4	1.10	1.00	1.050	0.100
5	1.03	1.45	1.240	0.420
6	1.38	1.24	1.310	0.140
7	1.07	1.14	1.105	0.070
8	1.34	1.43	1.385	0.090
9	0.00	1.19	0.595	1.190
10	1.32	0.00	0.660	1.320
11	1.14	1.31	1.225	0.170
12	1.39	1.42	1.405	0.030

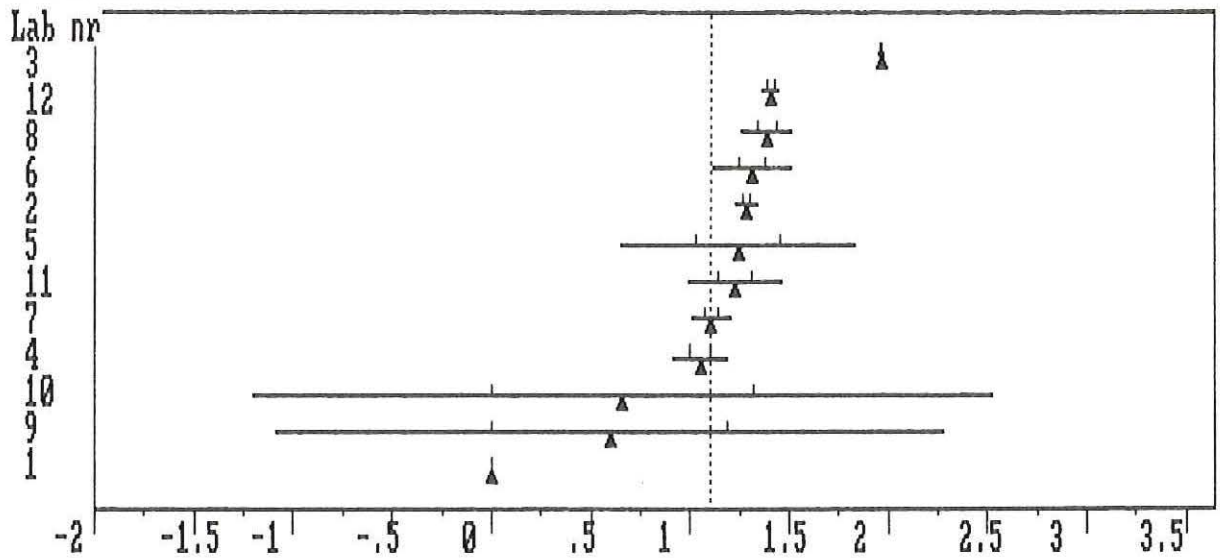
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 1.102

REPEATABILITY	1.066	REPRODUCIBILITY	1.590		
SD rep.	0.377	SD repr.	0.562	SD betw. labs	0.417
CV rep.	34.210%	CV repr.	51.030%	CV betw. labs	37.865

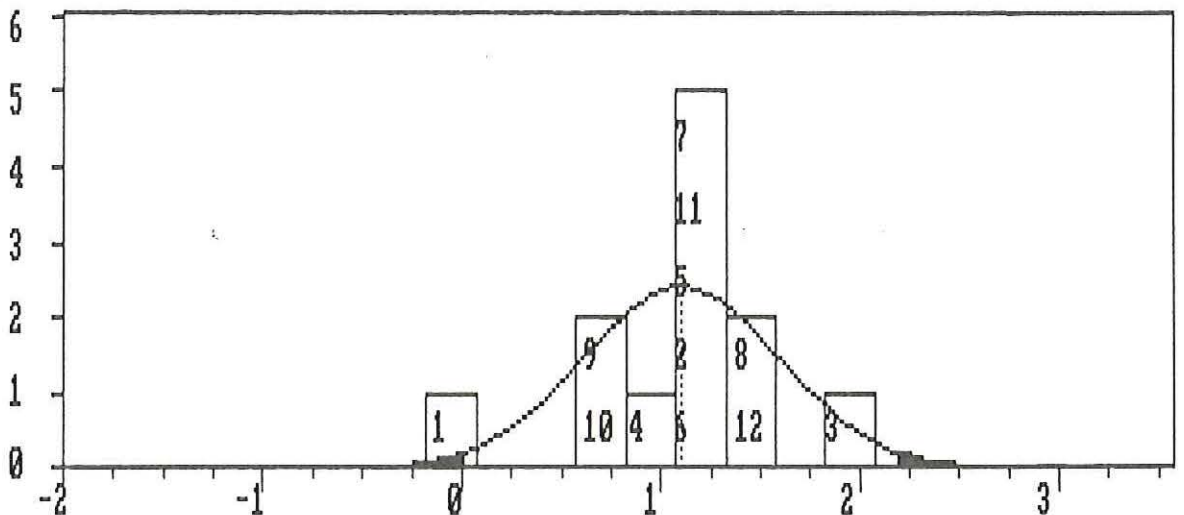
Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:	0.541	0.653	0.511	10	NO OUTLIER
Dixon	:	0.479	0.579	0.423	1	NO OUTLIER
	:			0.409	3	NO OUTLIER

Graph of the results and lab-means , with indication of the mean of the results  
(each horizontal line represents lab mean  $\pm 2$  \* standard deviation)



melkpoeder + 1,25% weip.

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
( the shaded areas comprise 5% of the total area )



melkpoeder + 1,25% weip.

excl. vals negatieve.

RP-HPLC Rennet Whey Determination

melkpoeder + 1.25% weip.

Lab nr	Results		Mean	Difference
2	1.30	1.26	1.280	0.040
3	1.97	1.96	1.965	0.010
4	1.10	1.00	1.050	0.100
5	1.03	1.45	1.240	0.420
6	1.38	1.24	1.310	0.140
7	1.07	1.14	1.105	0.070
8	1.34	1.43	1.385	0.090
9	1.19		1.190	0.000
10	1.32		1.320	0.000
11	1.14	1.31	1.225	0.170
12	1.39	1.42	1.405	0.030

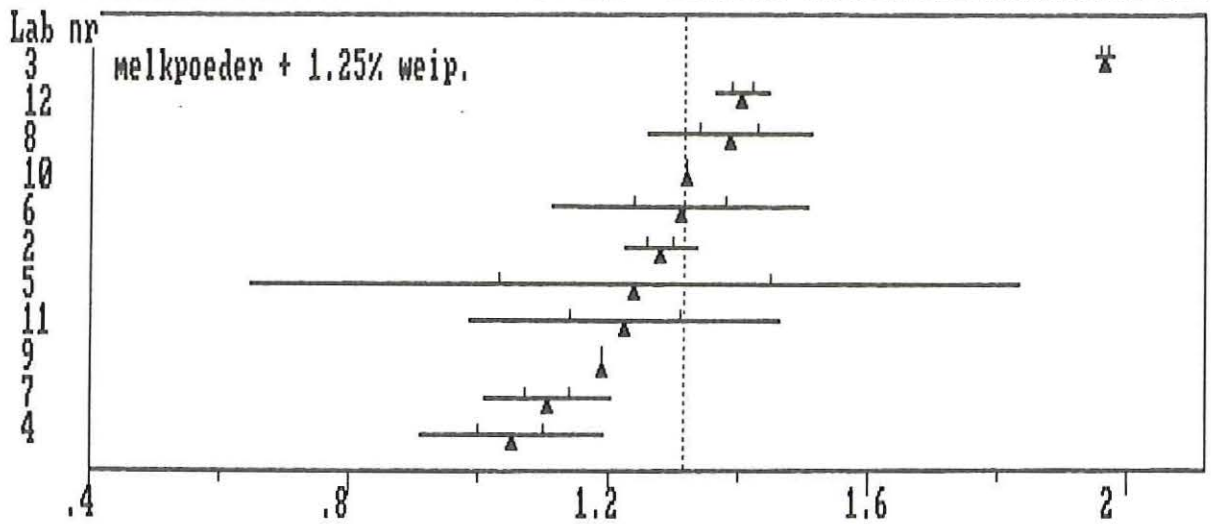
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 11 labs : 1.322

REPEATABILITY	0.334	REPRODUCIBILITY	0.745		
SD rep.	0.118	SD repr.	0.264	SD betw. labs	0.236
CV rep.	8.924%	CV repr.	19.934%	CV betw. labs	17.825%

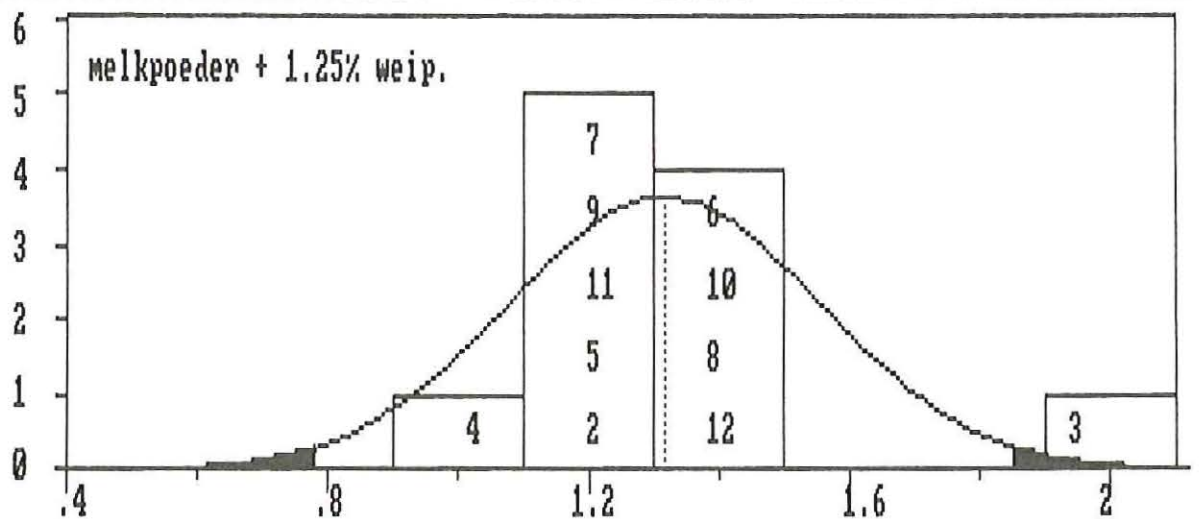
Tests	:	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:		0.638	0.754	0.704	5	Straggler
Dixon	:		0.564	0.672	0.155	4	NO OUTLIER
	:				0.651	3	Straggler

Graph of the results and lab-means, with indication of the mean of the results  
(each horizontal line represents lab mean  $\pm 2$  \* standard deviation)



excl. vals negatieven

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
( the shaded areas comprise 5% of the total area )



excl. vals negatieven.

**karnemelkpoeder (k)**

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	2.00	0.00	1.000	2.000
2	0.00	0.00	0.000	0.000
3	0.00	0.00	0.000	0.000
4	0.00	0.00	0.000	0.000
5	0.00	0.00	0.000	0.000
6	0.00	0.00	0.000	0.000
7	0.00	0.00	0.000	0.000
8	0.84	0.00	0.420	0.840
9	0.00	0.00	0.000	0.000
10	0.00	0.00	0.000	0.000
11	0.00	0.00	0.000	0.000
12	1.11	0.00	0.555	1.110

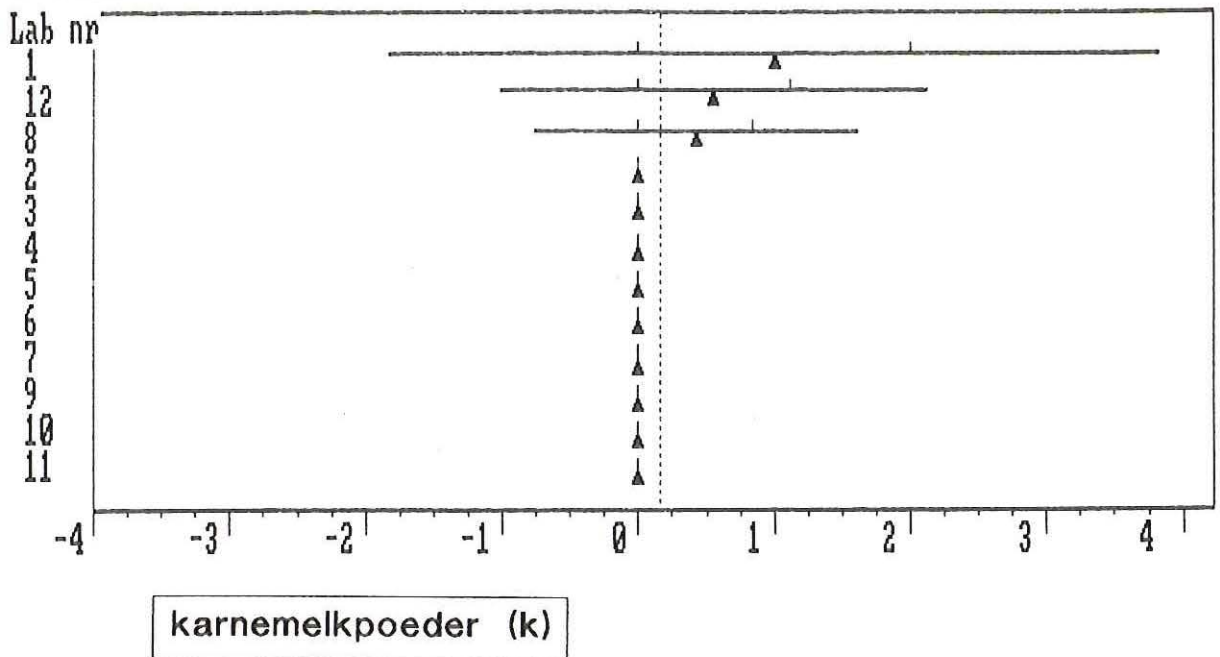
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 0.165

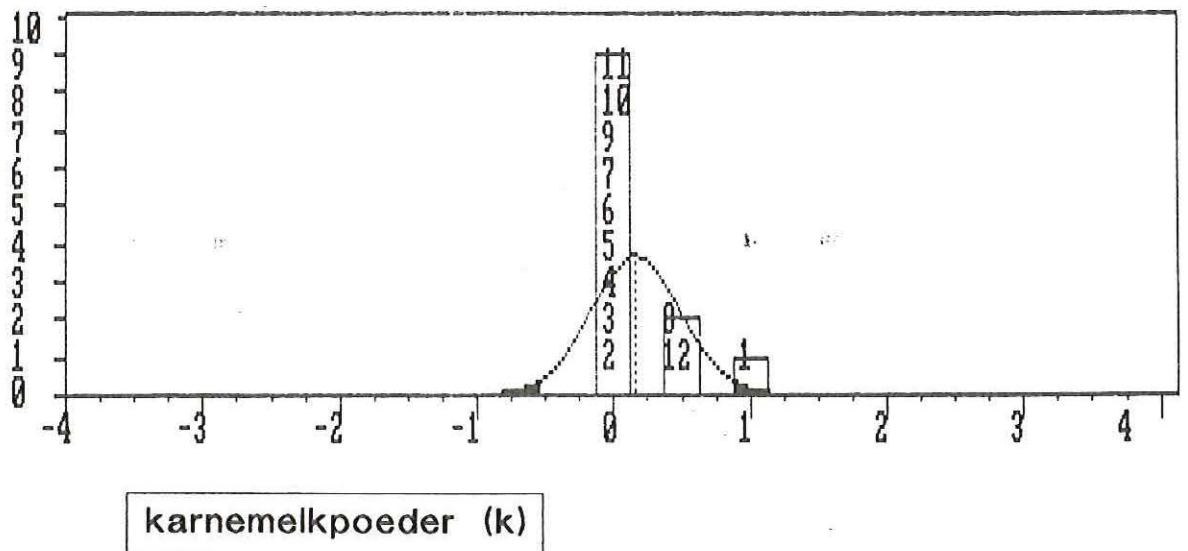
REPEATABILITY	1.407	REPRODUCIBILITY	1.407		
SD rep.	0.497	SD repr.	0.497	SD betw. labs	0.000
CV rep.	302.216%	CV repr.	302.216%	CV betw. labs	0.000

Tests	:	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:		0.541	0.653	0.674	1	Outlier
Dixon	:		0.479	0.579	0.000	11	NO OUTLIER
	:				0.445	1	NO OUTLIER

Graph of the results and lab-means , with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm 2$  \* standard deviation)



Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



RP-HPLC Rennet Whey Determination

Excl. Lab 1

**karnemelkpoeder (k)**

Lab nr	Results		Mean	Difference
2	0.00	0.00	0.000	0.000
3	0.00	0.00	0.000	0.000
4	0.00	0.00	0.000	0.000
5	0.00	0.00	0.000	0.000
6	0.00	0.00	0.000	0.000
7	0.00	0.00	0.000	0.000
8	0.84	0.00	0.420	0.840
9	0.00	0.00	0.000	0.000
10	0.00	0.00	0.000	0.000
11	0.00	0.00	0.000	0.000
12	1.11	0.00	0.555	1.110

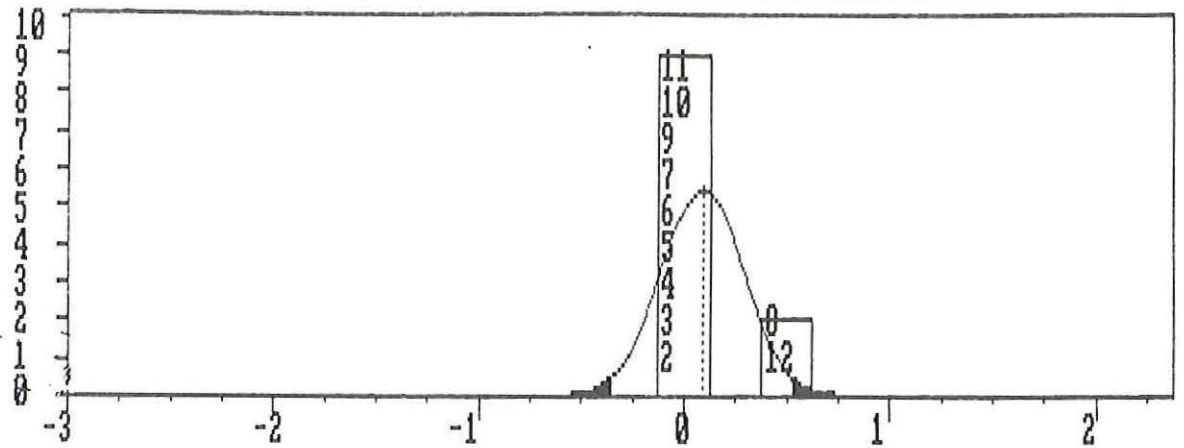
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 11 labs : 0.089

REPEATABILITY	0.839	REPRODUCIBILITY	0.839		
SD rep.	0.297	SD repr.	0.297	SD betw. labs	0.000
CV rep.	334.827%	CV repr.	334.827%	CV betw. labs	0.000

Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:	0.570	0.684	0.636	12	Straggler
Dixon	:	0.502	0.605	0.000	11	NO OUTLIER
	:			0.243	12	NO OUTLIER

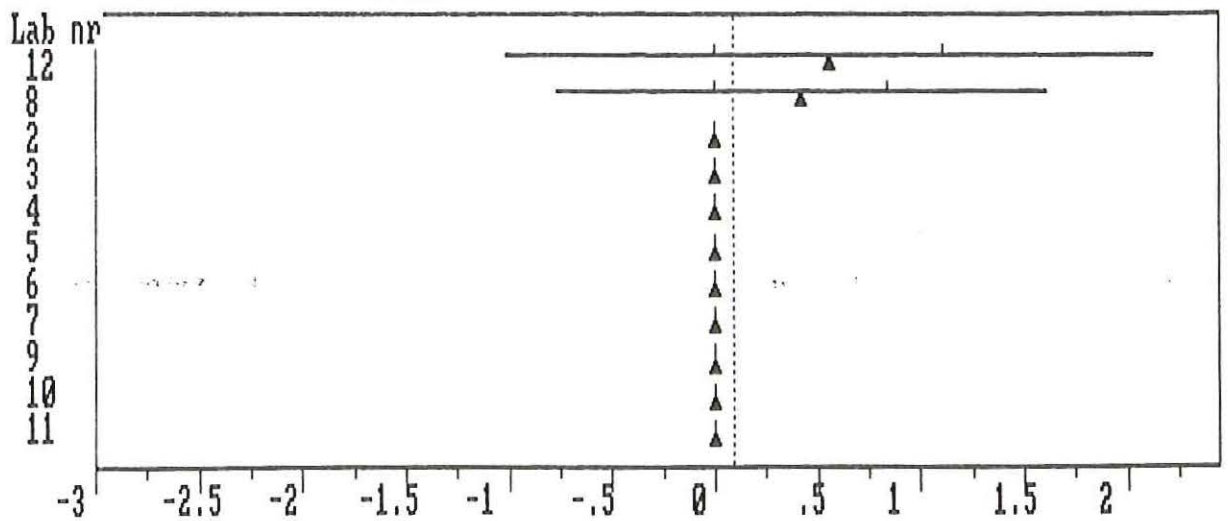
Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



Excl. Lab 1

karnemelkpoeder (k)

Graph of the results and lab-means , with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean +/- 2 \* standard deviation)



Excl. Lab 1

karnemelkpoeder (k)



# karnemelkpoeder (k) + 2,5% weip.

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	3.10	4.40	3.750	1.300
2	2.92	3.05	2.985	0.130
3	0.00	3.95	1.975	3.950
4	2.80	2.20	2.500	0.600
5	0.00	3.05	1.525	3.050
6	3.28	3.43	3.355	0.150
7	2.73	2.20	2.465	0.530
8	3.90	3.53	3.715	0.370
9	0.00	3.31	1.655	3.310
10	2.97	0.00	1.485	2.970
11	2.23	2.14	2.185	0.090
12	2.72	2.78	2.750	0.060

( )

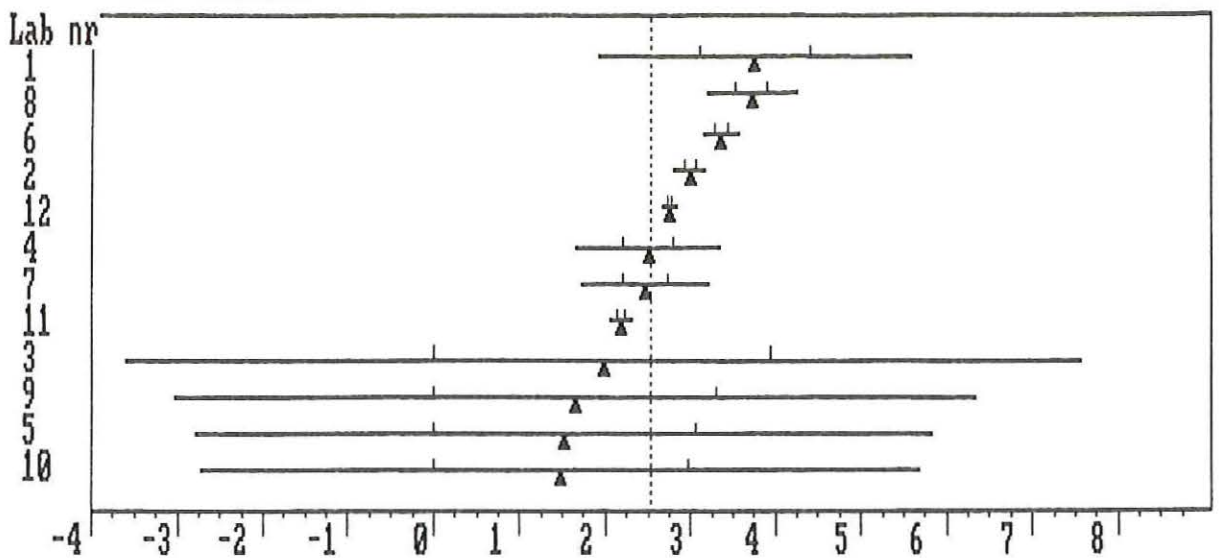
## Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 2.529

REPEATABILITY	3.967	REPRODUCIBILITY	3.967		
SD rep.	1.402	SD repr.	1.402	SD betw. labs	0.000
CV rep.	55.458%	CV repr.	55.458%	CV betw. labs	0.000

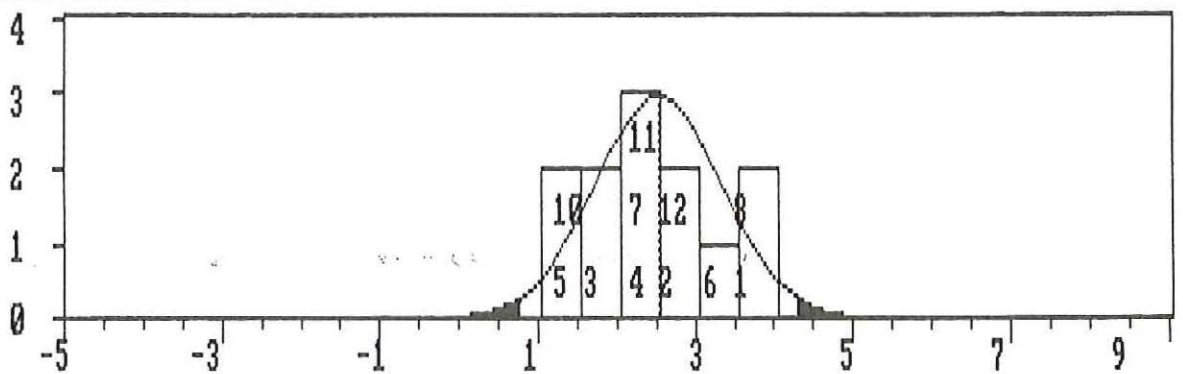
Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cl Lhran	:	0.541	0.653	0.331	3	NO OUTLIER
	:					
Dixon	:	0.479	0.579	0.018	10	NO OUTLIER
	:			0.016	1	NO OUTLIER

Graph of the results and lab-means , with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm$  2 \* standard deviation)



karnemelkpoeder (k) + 2,5% weip.

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



karnemelkpoeder (k) + 2,5% weip.

excl. vals negatieven.

karnemelkpoeder (k) + 2.5% weip.

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	3.10	4.40	3.750	1.300
2	2.92	3.05	2.985	0.130
3	3.95		3.950	0.000
4	2.80	2.20	2.500	0.600
5	3.05		3.050	0.000
6	3.28	3.43	3.355	0.150
7	2.73	2.20	2.465	0.530
8	3.90	3.53	3.715	0.370
9	3.31		3.310	0.000
10	2.97		2.970	0.000
11	2.23	2.14	2.185	0.090
12	2.72	2.78	2.750	0.060

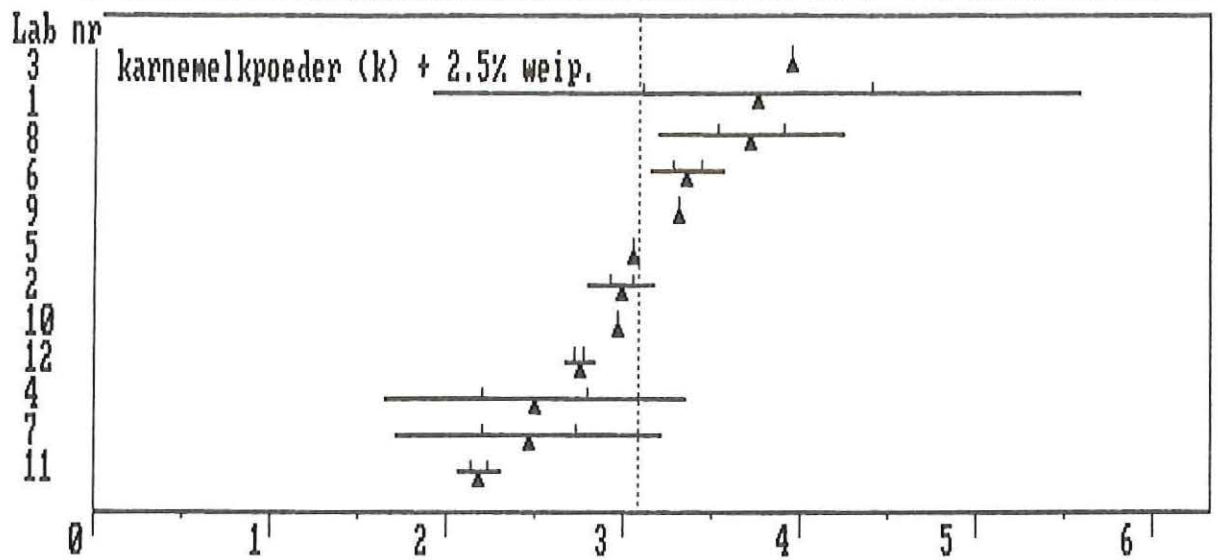
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 3.035

REPEATABILITY	1.122	REPRODUCIBILITY	1.759		
SD rep.	0.397	SD repr.	0.622	SD betw. labs	0.479
CV rep.	13.075%	CV repr.	20.492%	CV betw. labs	15.778%

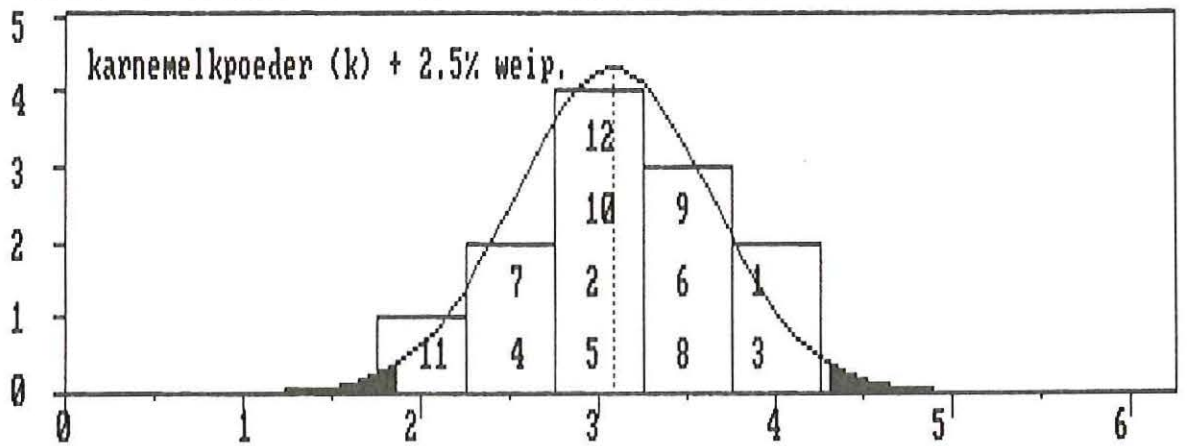
Tests	:	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:		0.680	0.794	0.671	1	NO OUTLIER
Dixon	:		0.608	0.717	0.179	11	NO OUTLIER
	:				0.135	3	NO OUTLIER

graph of the results and lab-means, with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm$  2 \* standard deviation)



excl. vals negatieve

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



excl. vals negatieve.

## karnemelkpoeder (a)

Lab nr	Results	Mean	Difference
1	1.50	0.00	0.750
2	0.00	0.00	0.000
3	0.00	0.00	0.000
4	1.40	0.00	0.700
5	0.00	0.00	0.000
6	0.00	0.00	0.000
7	0.00	0.00	0.000
8	2.49	2.00	2.245
9	0.00	0.00	0.000
10	0.00	0.00	0.000
11	0.00	0.00	0.000
12	1.96	0.00	0.980

### Results of repeatability /reproducibility calculations

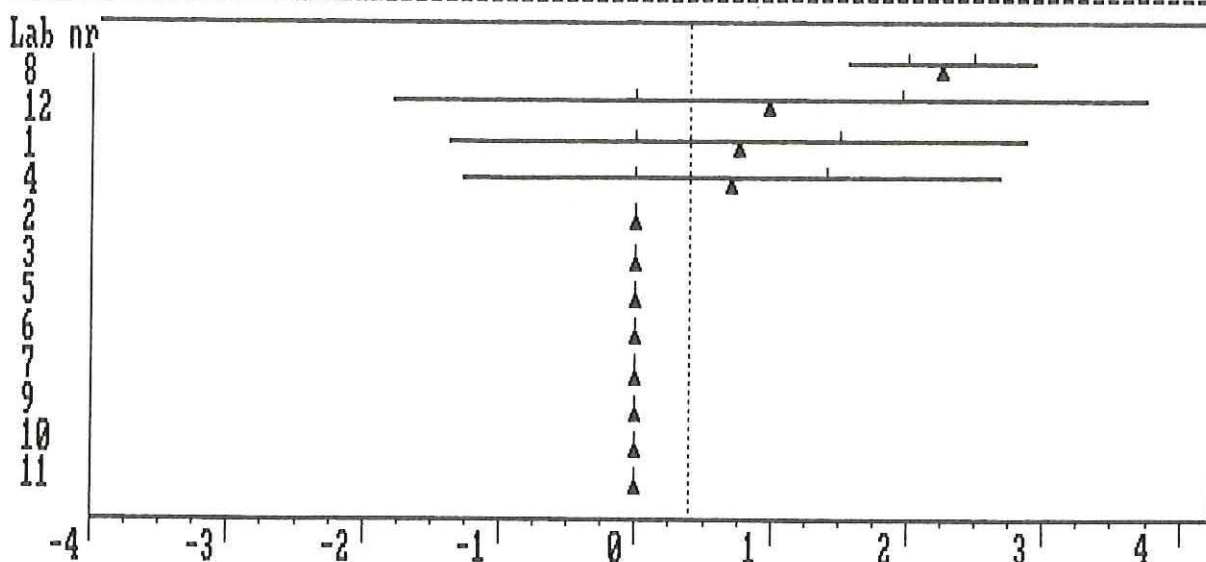
MEAN of the results of 12 labs : 0.390

REPEATABILITY	1.662	REPRODUCIBILITY	2.277
SD rep.	0.588	SD repr.	0.805
CV rep.	150.875%	CV repr.	206.682%

SD betw. labs 0.550  
CV betw. labs 141.260

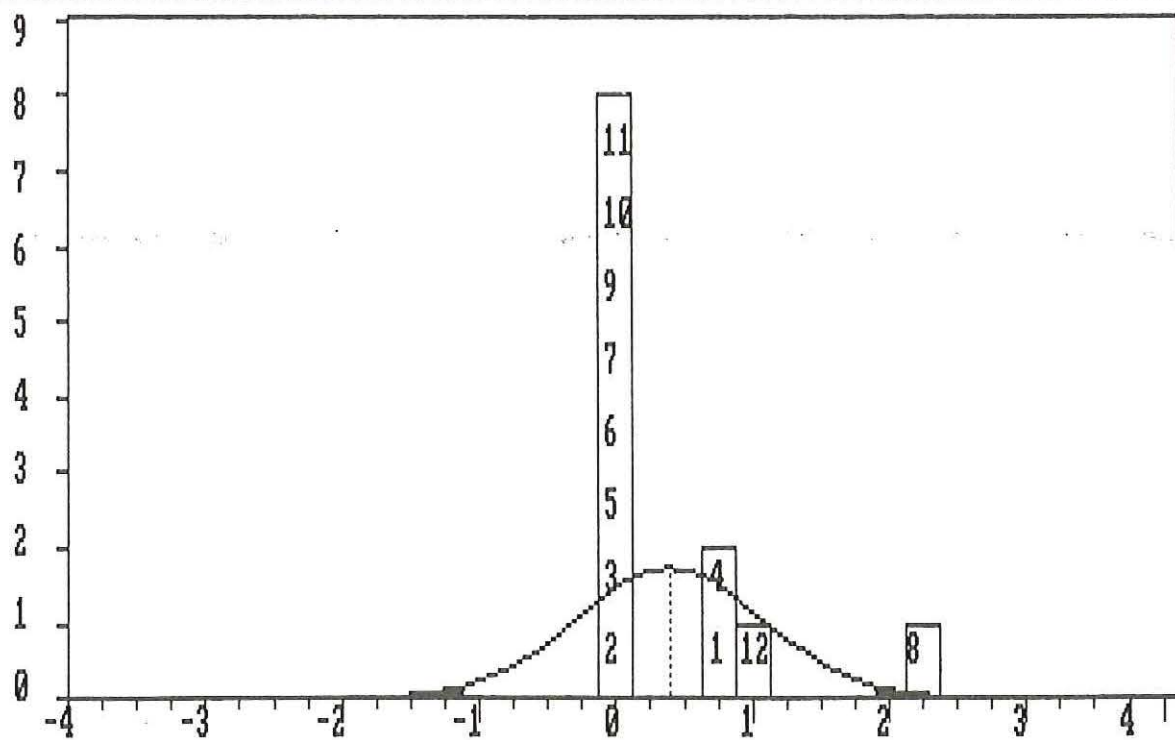
Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:	0.541	0.653	0.463	12	NO OUTLIER
Dixon	:	0.479	0.579	0.000	11	NO OUTLIER
	:			0.563	8	Straggler

Graph of the results and lab-means, with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm 2$  \* standard deviation)



karnemelkpoeder (a)

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



karnemelkpoeder (a)

# karnemelkpoeder (a) + 1,5% weip.

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	2.40	1.60	2.000	0.800
2	0.00	0.00	0.000	0.000
3	3.31	0.00	1.655	3.310
4	1.30	0.00	0.650	1.300
5	1.81	0.00	0.905	1.810
6	0.00	0.00	0.000	0.000
7	0.00	0.00	0.000	0.000
8	3.11	2.37	2.740	0.740
9	0.00	0.00	0.000	0.000
10	0.00	0.00	0.000	0.000
11	1.58	1.48	1.530	0.100
12	1.39	2.35	1.870	0.960

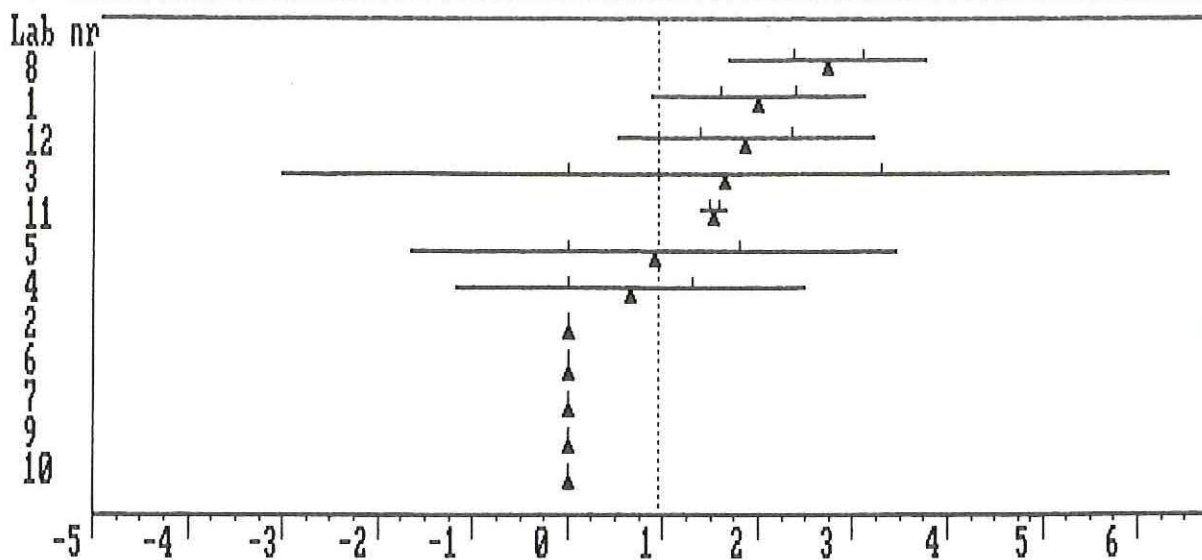
## Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 0.946

REPEATABILITY	2.452	REPRODUCIBILITY	3.273		
SD rep.	0.867	SD repr.	1.157	SD betw. labs	0.766
CV rep.	91.667%	CV repr.	122.326%	CV betw. labs	80.999%

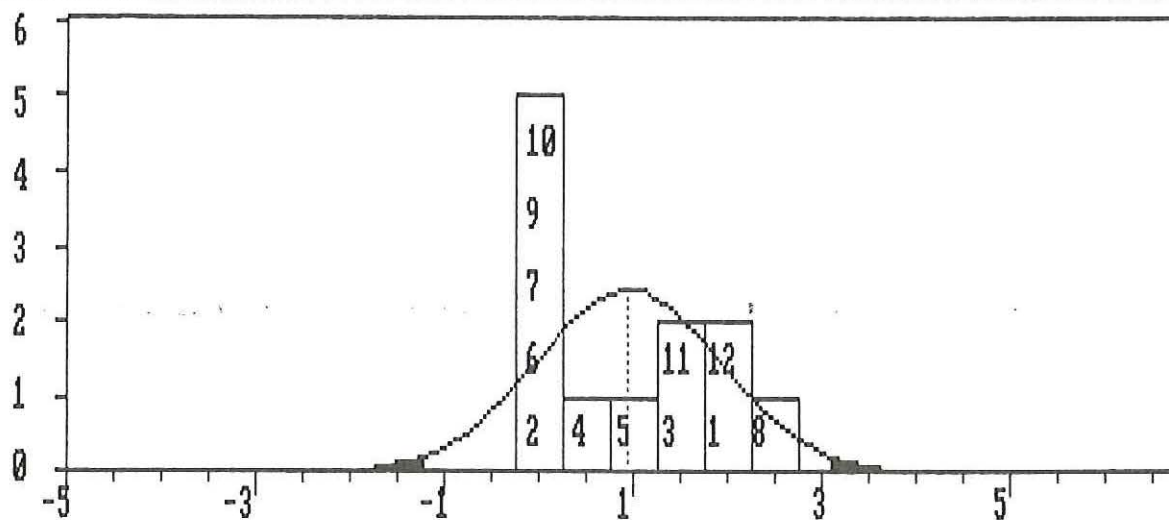
Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:	0.541	0.653	0.607	3	Straggler
Dixon	:	0.479	0.579	0.000	10	NO OUTLIER
	:			0.270	8	NO OUTLIER

Graph of the results and lab-means, with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm 2$  \* standard deviation)



karnemelkpoeder (a) + 1,5% weip.

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



karnemelkpoeder (a) + 1,5% weip.



excl. vals negatieve

karnemelkpoeder (a) + 1.5% weip.

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	2.40	1.60	2.000	0.800
3	3.31		3.310	0.000
4	1.30		1.300	0.000
5	1.81		1.810	0.000
8	3.11	2.37	2.740	0.740
11	1.58	1.48	1.530	0.100
12	1.39	2.35	1.870	0.960

( )

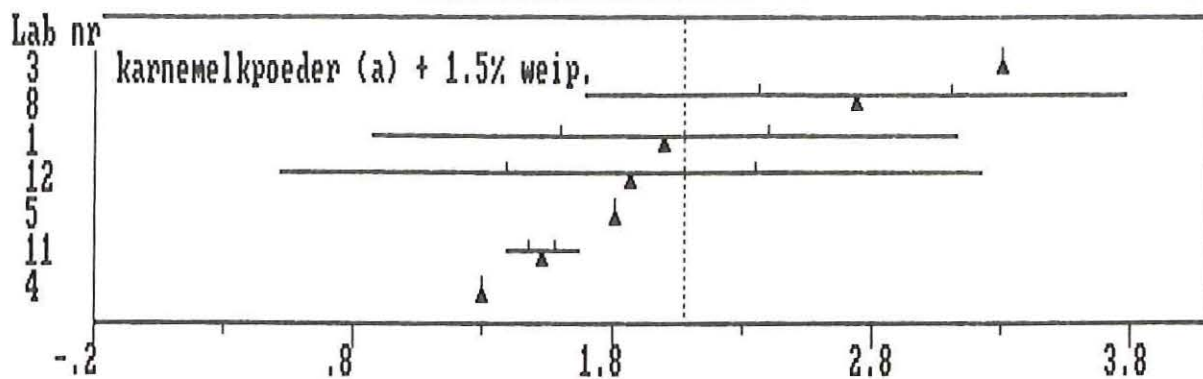
Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 7 labs : 2.064

REPEATABILITY	1.456	REPRODUCIBILITY	2.000		
SD rep.	0.515	SD repr.	0.707	SD betw. labs	0.485
CV rep.	24.941%	CV repr.	34.262%	CV betw. labs	23.491%

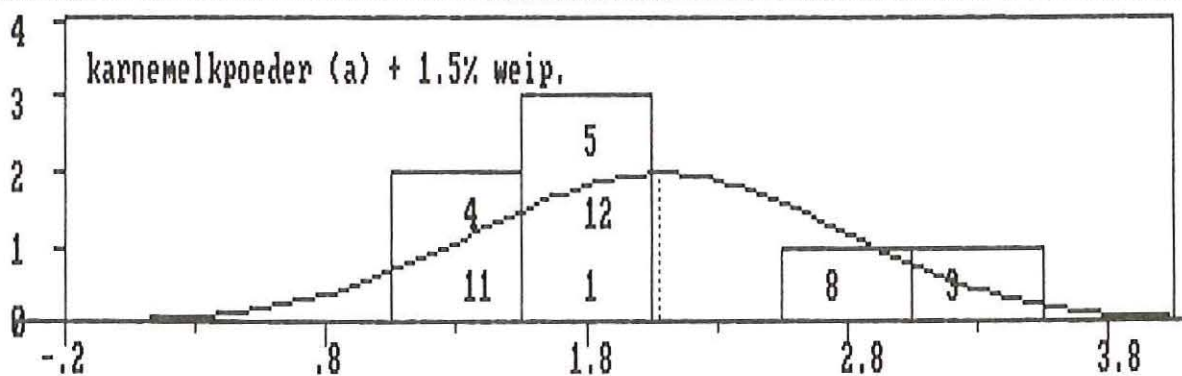
Tests	:	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Colloran	:		0.906	0.968	0.435	12	NO OUTLIER
	:						
Dixon	:		0.829	0.926	0.114	4	NO OUTLIER
	:				0.284	3	NO OUTLIER

GRAPH OF THE RESULTS AND LAB-MEANS, WITH INDICATION OF THE MEAN OF THE RESULTS  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm 2 \times$  standard deviation)



excl. vals negatieve

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



excl. vals negatieve.

# karnemelkpoeder (s)

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	0.00	0.00	0.000	0.000
2	0.00	0.00	0.000	0.000
3	0.00	0.00	0.000	0.000
4	12.00	12.80	12.400	0.800
5	0.00	0.00	0.000	0.000
6	0.00	0.00	0.000	0.000
7	0.00	0.00	0.000	0.000
8	0.00	0.00	0.000	0.000
9	0.00	0.00	0.000	0.000
10	0.00	0.00	0.000	0.000
11	0.00	0.00	0.000	0.000
12	0.00	0.00	0.000	0.000

( )

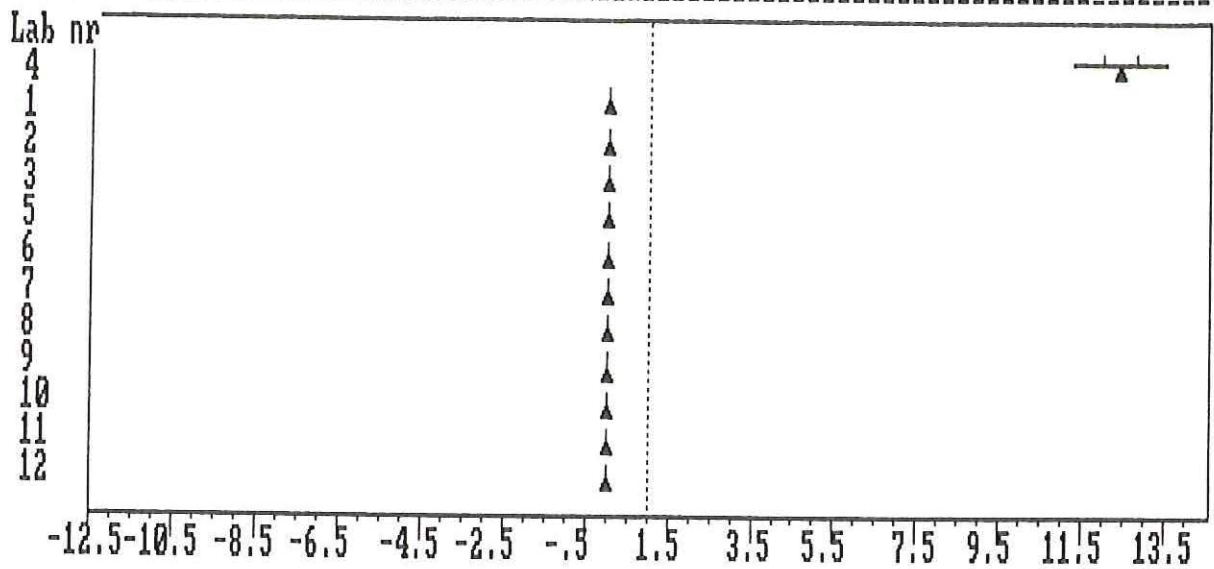
## Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 1.033

REPEATABILITY	0.462	REPRODUCIBILITY	10.130	
SD rep.	0.163	SD repr.	3.581	SD betw. labs 3.578
CV rep.	15.803%	CV repr.	346.590%	CV betw. labs 346.230%

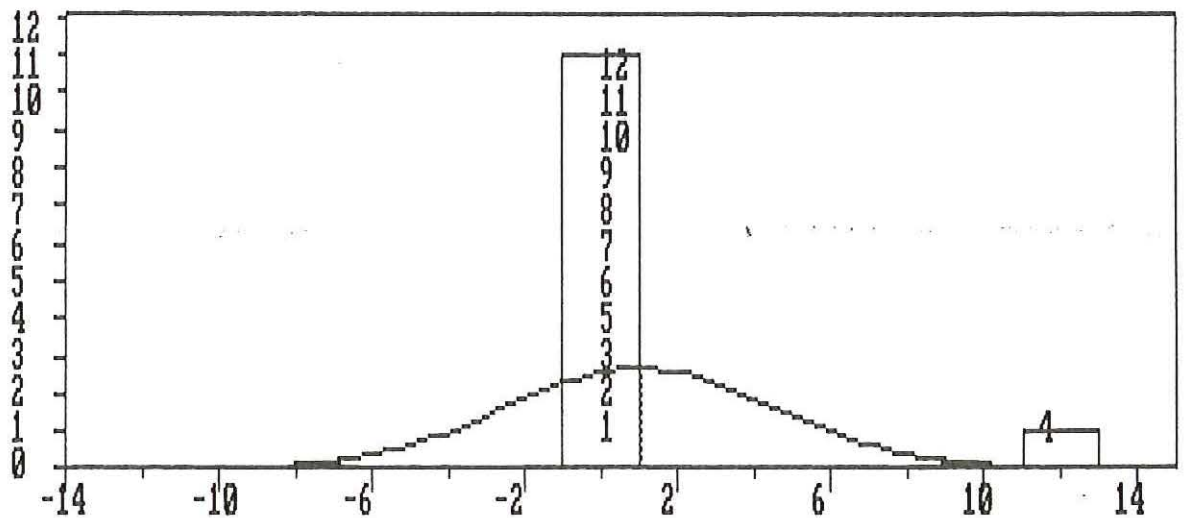
Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:	0.541	0.653	1.000	4	Outlier
Dixon	:	0.479	0.579			
	:			1.000	4	Outlier

Graph of the results and lab-means, with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean  $\pm 2 * \text{standard deviation}$ )



karnemelkpoeder (s)

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



karnemelkpoeder (s)

# karnemelkpoeder (s) + 1,5% weip.

Lab nr	Results		Mean	Difference
1	0.00	0.00	0.000	0.000
2	0.00	0.00	0.000	0.000
3	0.00	0.00	0.000	0.000
4	13.00	12.60	12.800	0.400
5	0.00	0.00	0.000	0.000
6	0.00	0.00	0.000	0.000
7	0.00	0.00	0.000	0.000
8	14.60	0.00	7.300	14.600
9	0.00	0.00	0.000	0.000
10	0.00	0.00	0.000	0.000
11	0.00	0.00	0.000	0.000
12	11.50	0.00	5.750	11.500

( )

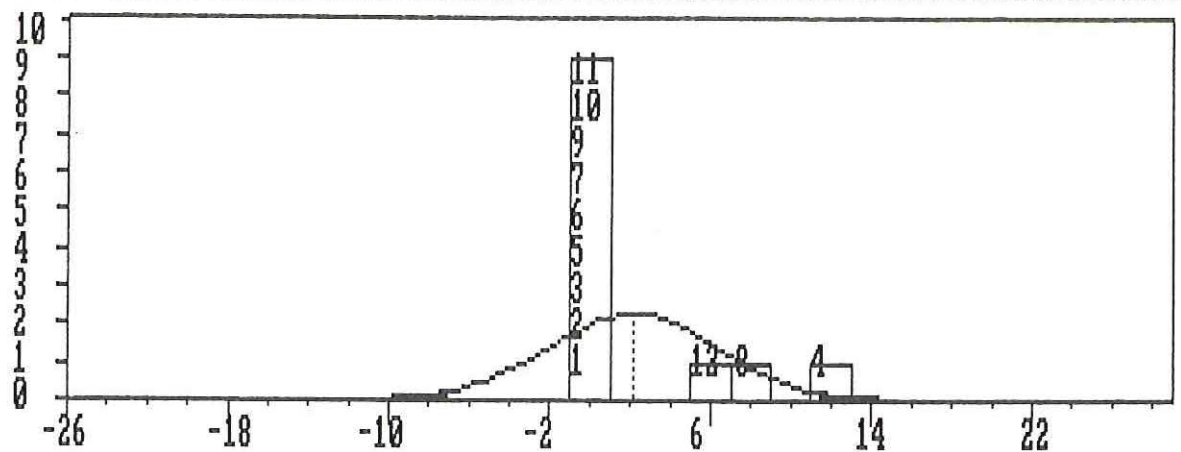
## Results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 2.154

REPEATABILITY 10.733	REPRODUCIBILITY 14.109	
SD rep. 3.795	SD repr. 4.988	SD betw. labs 3.238
CV rep. 176.150%	CV repr. 231.559%	CV betw. labs 150.302%

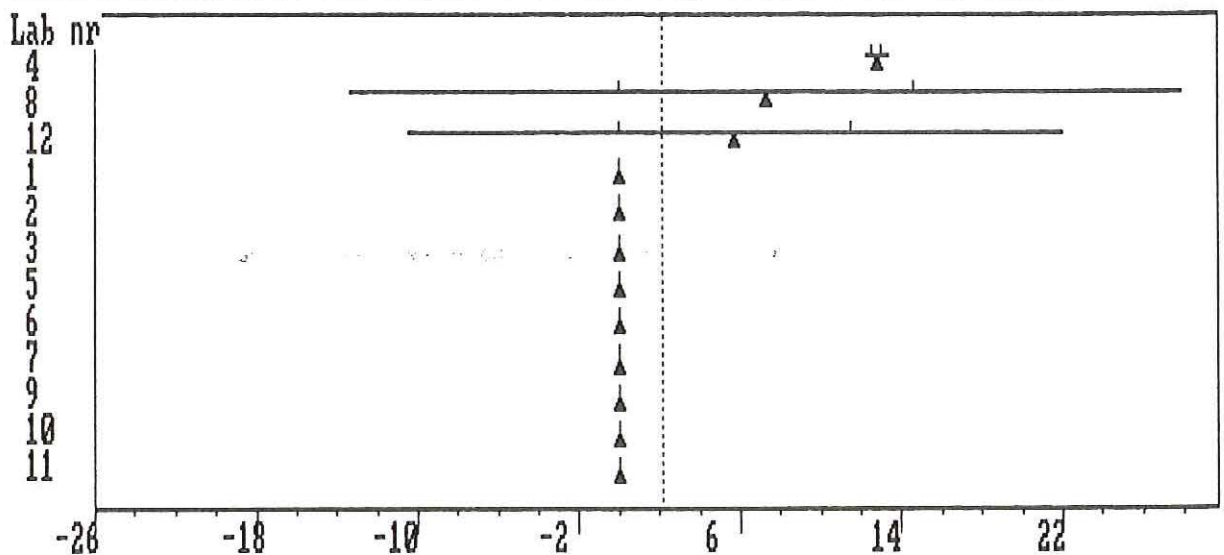
Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
CL nran	:	0.541	0.653	0.617	8	Straggler
Dixon	:	0.479	0.579	0.000	11	NO OUTLIER
	:			0.430	4	NO OUTLIER

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



karnemelkpoeder (s) + 1,5% weip.

Graph of the results and lab-means , with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean +/- 2 \* standard deviation)



karnemelkpoeder (s) + 1,5% weip.

**karnemelkpoeder (s) + 3% weip.**

lab nr	Results		Mean	Difference
1	0.00	0.00	0.000	0.000
2	0.00	0.00	0.000	0.000
3	0.00	0.00	0.000	0.000
4	0.00	12.20	6.100	12.200
5	0.00	0.00	0.000	0.000
6	0.00	0.00	0.000	0.000
7	0.00	0.00	0.000	0.000
8	13.94	11.45	12.695	2.490
9	0.00	0.00	0.000	0.000
10	0.00	0.00	0.000	0.000
11	0.00	0.00	0.000	0.000
12	11.70	0.00	5.850	11.700

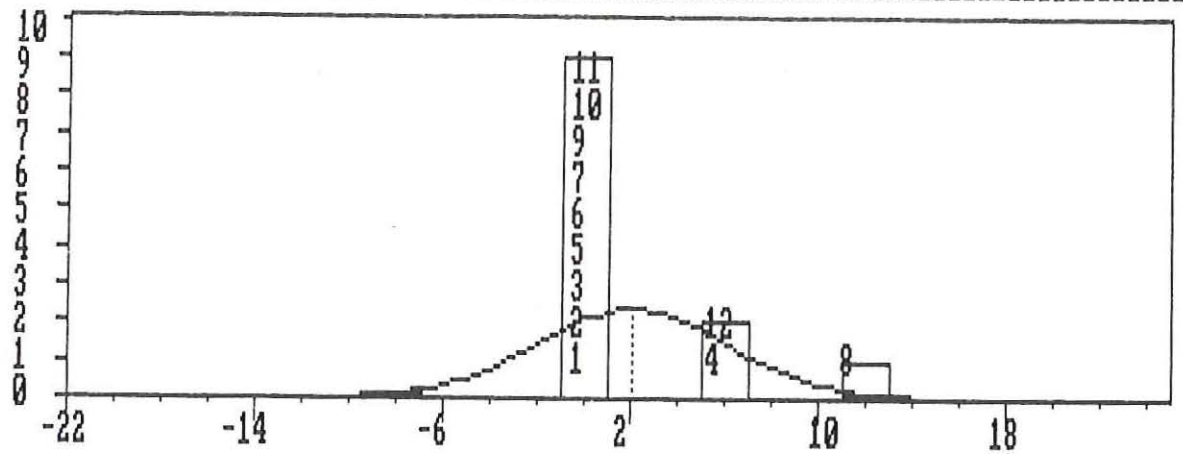
results of repeatability /reproducibility calculations

MEAN of the results of 12 labs : 2.054

REPEATABILITY 9.865	REPRODUCIBILITY 13.454	
SD rep. 3.488	SD repr. 4.757	SD betw. labs 3.234
CV rep. 169.819%	CV repr. 231.607%	CV betw. labs 157.491

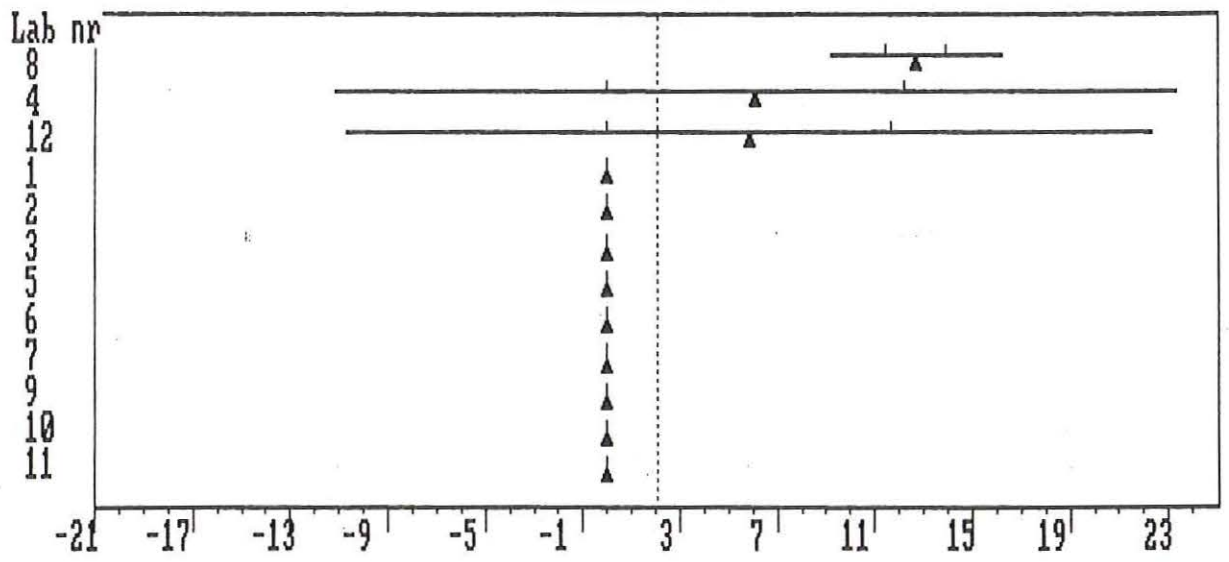
Tests	Tab. values:	5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
Cochran	:	0.541	0.653	0.510	4	NO OUTLIER
Dixon	:	0.479	0.579	0.000	11	NO OUTLIER
	:			0.519	8	Straggler

Histogram showing the distribution of lab-means, with fitted normal distribution  
 ( the shaded areas comprise 5% of the total area )



karnemelkpoeder (s) + 3% weip.

Graph of the results and lab-means , with indication of the mean of the results  
 (each horizontal line represents lab mean +/- 2 \* standard deviation)



karnemelkpoeder (s) + 3% weip.