

Afdeling Algemene Chemie 1983-09-30
RAPPORT 83.78 pr.nr. 505.6030

Onderwerp: Het toepasbaar maken van
NIR voor het bepalen van de samen-
stelling van vetkernen.

Verzendlijst: directeur, direktie VKA, sektorhoofd, afdeling Algemene
Chemie (4x), afd. Normalisatie (Humme), Projektbeheer,
projektleider

Afdeling Algemene Chemie

Datum: 1983-09-30

RAPPORT 83.78

Pr.nr. 505.6030

Projekt: Ontwikkeling methoden van onderzoek voor melk- en zuivelprodukten
m.b.v. NIR.

Onderwerp: Het toepasbaar maken van NIR voor het bepalen van de samenstelling
van vetkernen.

Bijlage(n): 8

Voorgaande(e) verslag(en): 82.37, d.d. 1982-04-23

82.91, d.d. 1982-10-07 (zuivelzicht 75 (1983) 210)

83.31, d.d. 1983-02-18 (zuivelzicht 75 (1983) 547)

83.65, d.d. 1983-09-15

83.66, d.d. 1983-09-15

Doel:

Het middels screening van monsters vetkernen m.b.v. NIR nagaan of deze monsters voldoen aan de in de EEG-Verordening 1725/79 gestelde eisen en tevens het terugbrengen van het aantal uit te voeren analyses met betrekking tot deze controle.

Samenvatting:

Het RIKILT controleert in het kader van EEG-regeling 1725/79 o.a. de samenstelling van vetkernen. Dit o.a. ter vaststelling of het eindprodukt een bepaalde hoeveelheid magere melkpoeder bevat.

Naast de voorgeschreven analyses voert het RIKILT vaak extra analyses uit om een beter inzicht te krijgen in de samenstelling van de monsters. Deze extra analyses zijn duur en tijdrovend en blijken achteraf vaak niet nodig.

Voor de calibraties zijn 70 monsters vetkern gebruikt met behulp waarvan vergelijkingen werden berekend voor de gehalten aan: vocht, eiwit, lactose, as, vet en magere melkpoeder.

Conclusie:

Gesteld kan worden dat met de calibraties voor de bepaling van de samenstelling van vetkernen m.b.v. de IA-400 een belangrijke bijdrage geleverd kan worden aan de controle van de EEG 1725/79 verordening. Hierdoor kan de controle sneller en doelmatiger uitgevoerd worden.

Verantwoordelijk: ir H. Oortwijn

Medewerker(s)/Samensteller(s): E.A.M. Boers, R. Frankhuizen

Projectleider: R. Frankhuizen

1. Inleiding

Voor de toekenning van steun op mager melkpoeder in Kunstmelkvoeder heeft de E.E.G.-commissie controleregels uitgevaardigd met betrekking tot die steunverlening. Hiertoe werd met ingang van januari 1980 de Verordening E.E.G. 1725/79 van kracht (1).

Eén van de consequenties hiervan is dat door de A.I.D. frequenter bemonsterd wordt op zowel het verwerkte mager melkpoeder en vetkern* als het verkregen eindprodukt. Het RIKILT voert in de door de A.I.D. bemonsterde monsters de voorgeschreven laboratoriumanalyses uit.

Naast de voorgeschreven analyses voert het RIKILT - al dan niet in opdracht van de AID - nog al eens extra analyses uit (2, 3, 4) om afwijkende analyse-resultaten te verklaren.

Omdat over deze extra analyses tussen de verschillende lidstaten van de EEG nog geen overeenstemming is bereikt, wordt de keuze daarvan overgelaten aan de bevoegde onderzoek instelling.

Daar uit de aard van de afwijkende analyse resultaten vaak niet valt op te maken met welke aanvullende analyse de afwijking verklaard kan worden, worden meerdere analyses uitgevoerd.

Ook komt het voor dat een analyse alleen in combinatie met een andere bepaalde feiten oplevert.

Als voorbeeld kan genoemd worden de bepaling van de caseïneindex (4) die alleen in combinatie met de bepaling van het glycomacropeptide (2) of de bepaling van het melkpoedergehalte m.b.v. zetmeelgelelelectroforese (3) bepaald kan worden omdat de caseïne index beïnvloed wordt door de aanwezigheid van weipoeder.

Bij vaststelling van afwezigheid van weipoeder worden laatst genoemde analyses (2.3) voor interpretatie van de bepaling van de caseïne index onnodig uitgevoerd. Het zal duidelijk zijn dat vooraf over deze informatie niet wordt beschikt.

Het ligt dan ook voor de hand dat gezocht is naar een methode die goedkoop, snel en betrouwbaar die informatie verschaft op grond waarvan extra analyses veel minder vaak uitgevoerd behoeven te worden. Daarnaast kan nagegaan worden of controle onderzoek altijd met referentie methoden uitgevoerd moet worden dan wel dat met een screeningsmethode bepaald wordt of een monster aan de gestelde normen voldoet.

Bij analyse uitslagen die deze norm benaderen c.q. overschrijden moet dan -ter bevestiging- de (voorgeschreven) referentie methode uitgevoerd worden.

*Onder vetkernen wordt verstaan mengsels van mager melkpoeder en melkvreemd vet waaraan geen andere stoffen zijn toegevoegd.

Omdat deze "analyse gang" m.b.v. NIR-spectroscopie met succes toegepast wordt voor de controle van o.a. melkpoeders voor rechtstreekse verwerking in mengvoeders, is onderzocht of deze "analyse gang" ook toegepast kan worden op de controle van half- en eindprodukten.

Dit onderzoek had ten doel te onderzoeken of m.b.v. NIR-spectroscopie middels 'screening' na is te gaan of monsters vetkern aan de in de verordening gestelde eisen voldoen.

2. Materiaal en methoden

2.1 Materiaal

Voor de calibraties zijn 70 monsters vetkern gebruikt uit de periode augustus 1982 t/m mei 1983. De monsters waren alle geproduceerd in Nederland.

2.2 Methodes

De gehalten aan vocht werden bepaald volgens de FIL-IDF droogstoof methode (5).

Eiwit (totaal stikstof x 6,38) werd bepaald volgens de Kjeldahl methode (6) m.b.v. het Kjeltex systeem (Tecator AB, Zweden).

De lactose gehalten werden enzymatisch bepaald m.b.v. een Auto Analyzer systeem (7).

De vetgehalten werden bepaald volgens de methode Röse-Gottlieb (vet-extractie na alkalische ontsluiting) (8), en de asgehalten door middel van droge verassing bij 500°C (9).

De magere melkpoeder gehalten werden vastgesteld door naast de bepaling van het mager melkpoeder gehalte d.m.v. enzymatische coagulatie van het paracaseïne (10) het eiwit, lactose, as en vetgehalten hierin te betrekken alsmede de opgave van de fabrikant. Uit deze informatie werden de meest waarschijnlijke gehalten magere melkpoeder berekend.

Alle bepalingen werden in duplo uitgevoerd. De gemiddelden van de gevonden waarden werden in de computer gebracht als een "As is" basis.

2.3 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) programmeerbare calculator.

3. Resultaten en discussie

In tabel 1 zijn de resultaten vermeld van de verschillende calibraties. Zowel de multiple correlatie coëfficiënten als de standaard-afwijkingen van de verschillen zijn goed te noemen. Uitzondering hierop is de standaard-afwijking van het verschil van de vet calibratie. De berekende $S(V)$ van 0,30 (95% betrouwbaarheidsinterval van $\pm 0,60$) wordt echter voor een groot deel veroorzaakt door de opbouw van de calibratie (zie frequentieverdeling van calibratie monsters op vetgehalte bijlage..). Duidelijk zijn twee groepen te onderscheiden.

Door de calibratie op te splitsen in twee deelcalibraties werd de $S(V)$ meer dan gehalveerd (0,13 en 0,15). Alle drie de vetcalibraties zijn ingebracht in de Infra Alyzer welke met de inmiddels ingebrachte Infra spanoption een "automatic range switching" functie bezit waardoor de beoordelaar geen keuze hoeft te maken uit verschillende vet percentages.

De $S(V)$ van de magere melkpoeder gehalten (0,43) lijkt hoog, men moet zich hierbij echter realiseren dat de nauwkeurigheid van de officiële EEG methode voor de bepaling van het magere melkpoeder gehalte in diervoeders d.m.v. enzymatische coagulatie van paracaseïne (10) voor wat betreft de herhaalbaarheid ook niet zo hoog is (maximaal 2 g magere melkpoeder op 100 g onderzocht diervoeder in tenminste 90% van de bestudeerde gevallen).

Voor de reproduceerbaarheid geldt dat in tenminste 90% van de bestudeerde gevallen het verschil tussen de in twee laboratoria op een zelfde monster verkregen resultaten niet meer dan 5 g magere melkpoeder op 100 g onderzocht diervoeder was.

In vergelijking met de nauwkeurigheid van deze methode is de nauwkeurigheid van de NIR-screeningsmethode alleszins acceptabel.

Immers een $S(V)$ van 0,43 betekent een 95% betrouwbaarheidsinterval van $\pm 0,9$, terwijl de reproduceerbaarheid - gelet op de zeer grote nauwkeurigheid van de reproduceerbaarheid binnen het laboratorium en de hoogte van de F-waarden welke informatie verschaffen over de overzetbaarheid van calibraties naar andere Infra Alyzers - zeker niet groter zal zijn dan 5% bij een betrouwbaarheidsinterval van 90%.

Gelet op het beperkte aantal monsters waarmee de calibratie is uitgevoerd, verdient het voorkeur de calibratie in de loop der tijd nog met enige tientallen monsters uit te breiden. Tevens verdient het dan voorkeur om middels een andere aanpak van de wiskunde een nieuwe berekening uit te voeren die moet leiden tot een kleiner aantal (≤ 6) regressie variabelen om een goede overzetbaarheid te verzekeren.

Tabel 1. Calibratie gegevens vetkernen m.b.v. IA-400.

	Vocht	Eiwit	Lactose	As	Vet "Overall"	Vet "Laag"	Vet "Hoog"	Magere melkpoeder
N	64	61	66	63	62	33	25	63
R ²	0,979	0,997	0,996	0,989	0,999	0,998	0,988	0,998
S(V)	0,125	0,183	0,344	0,090	0,304	0,148	0,127	0,426
# filters	8	10	9	11	10	7	12	12
Range	1,3-4,4	17,6-26,0	23,4-37,6	3,9-6,6	26,2-50,4	32,1-41,5	47,4-50,4	50,3-76,8

4. Conclusie

Met de calibraties voor de bepaling van de samenstelling van vetkernen m.b.v. de IA-400 kan een belangrijke bijdrage geleverd worden aan de controle zoals vastgelegd in de EEG 1725/79 regeling.

Dit komt enerzijds door de veelheid van informatie die bij de screening ter beschikking komt, anderzijds door de mogelijkheid de juiste keuzen te kunnen maken voor extra uit te voeren analyses.

Referenties

1. Verordening (EEG) Nr. 1725/79 van de Commissie, 26 juli 1979, met betrekking tot de uitvoeringsbepalingen inzake de toekenning van steun voor tot mengvoeder verwerkte ondermelk en voor magere melkpoeder bestemd voor kalvervoeding. Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen, nr. L 199/1.
2. A sensitive HPLC method of detecting and estimating rennet whey total solids in skim milk powder. C. Olieman and J.W. van den Bedem. Neth. Milk Dairy J. 37 (1983) 27.
3. Bepaling van melkpoeder in veevoeder m.b.v. zetmeelgelelektroforese. Intern (RIKILT) voorschrift 1978-08-01.
4. Dried milk - Determination of casein number for heat classification First draft IGE17: Doc. 1/80.
5. International Dairy Federation: Determination of the water content of dried milk, FIL-IDF 26:1964.
6. Determination of the protein content of milk by the Kjeldahl method. Reference method with HgO as catalyst NEN 3198, UDC:637.127.6 november 1961.
7. Technicon International Division, Lactose in milk- and wheypowders (enzymatic) industrial method AAI NL Sept. 1977.
8. Gravimetric determination of the fat content of milk, cream, concentrated milks and milkpowder by the Röse-Gottlieb method. NEN 3197 UDG:637.127.6, november 1961.
9. International Dairy Federation: Determination the ash content of processed cheese products, FIL-IDF 27:1964.
10. Bepaling van de hoeveelheid magere-melkpoeder in diervoeders, door enzymatische coagulatie van paracaseïne. Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen, nr. L 296/10 (5.11.80).

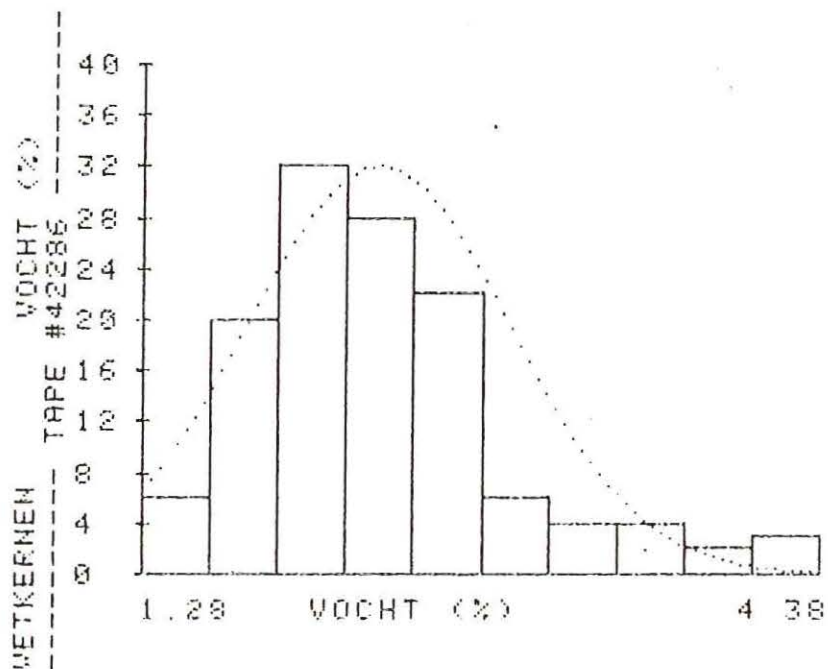
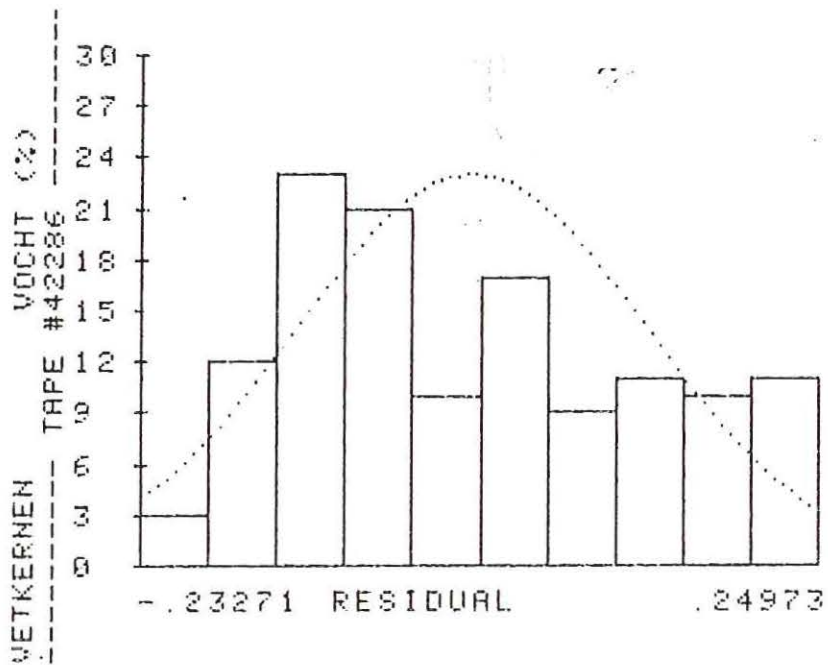
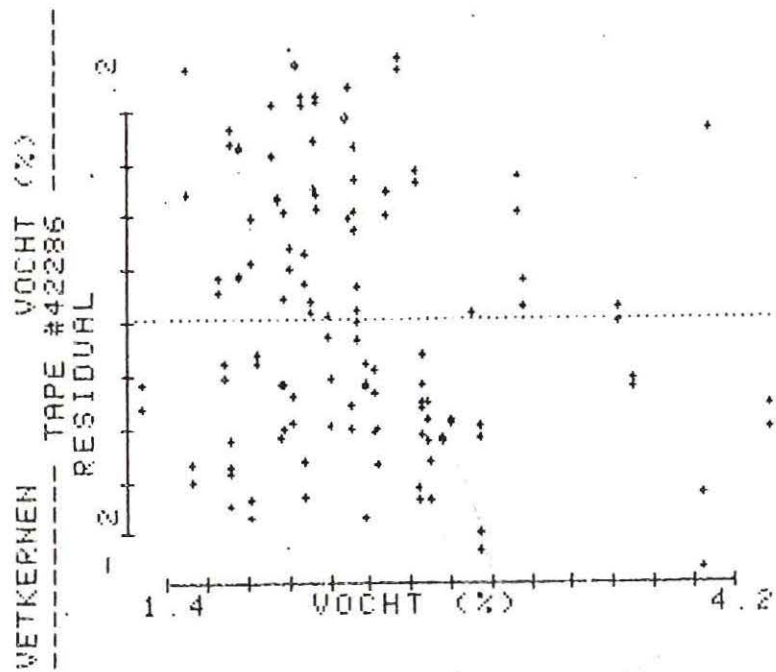
Constituent: VOCHT (%)

Filter Selection

3 7 9 13 14 16 17 19

8 Regression Variables and
127 Records included

VETKERNEN		VOCHT (%)
----- TAPE #42286 -----		
COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	2.816	15.43
FILTER F03	-28.579	8.31
FILTER F07	-55.892	5.02
FILTER F09	155.460	4.74
FILTER F13	-55.042	6.55
FILTER F14	-89.336	3.82
FILTER F16	29.725	26.77
FILTER F17	61.162	9.72
FILTER F19	-21.563	2.94
RESIDUAL STD. DEV.		0.1249
CORRELATION COEFF.		0.9786
REGRESSION F-RATIO		333.9823
INDEX SYSTEM ERROR		-4.0650



Constituent: EIWIT (%)

Filter Selection

2 3 5 10 11 13 14 15
17 20

10 Regression Variables and
122 Records included

WETKERNEN EIWIT (%)
----- TAPE #42286 -----

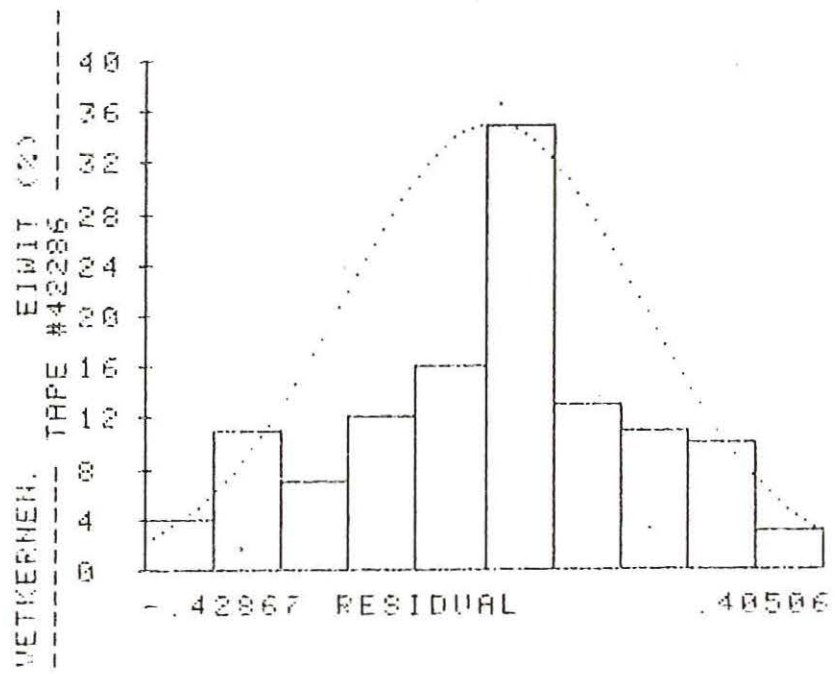
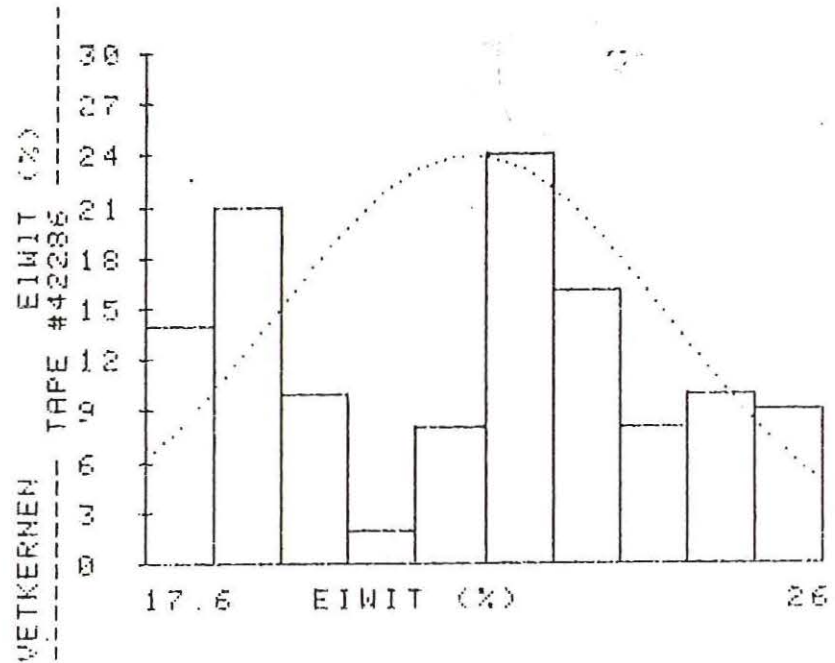
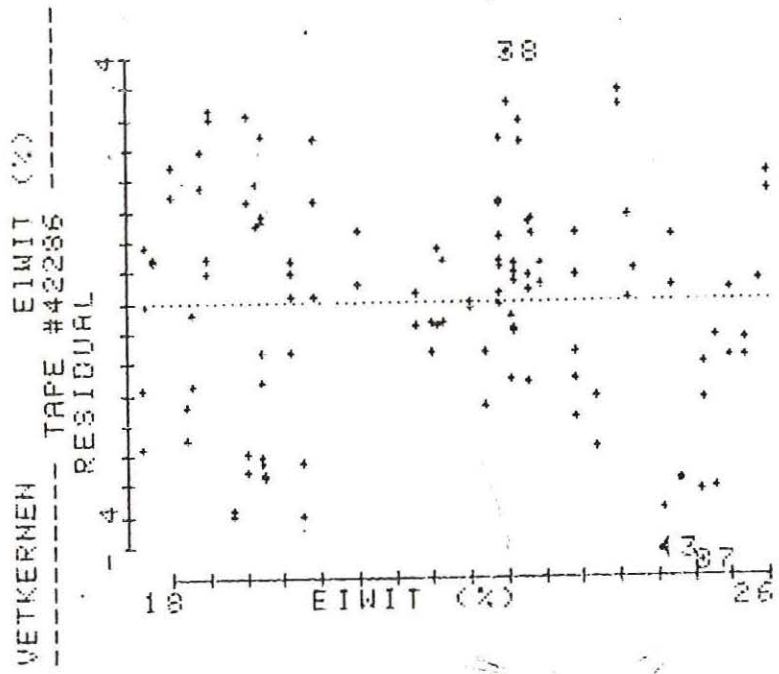
COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	21.854	47.88
FILTER F02	150.100	6.09
FILTER F03	-119.730	5.56
FILTER F05	-109.690	6.47
FILTER F10	353.240	39.65
FILTER F11	23.865	7.20
FILTER F13	-554.570	10.72
FILTER F14	-210.330	23.04
FILTER F15	202.310	7.06
FILTER F17	121.770	5.56
FILTER F20	101.190	6.00

RESIDUAL STD. DEV. 0.1825

CORRELATION COEFF. 0.9972

REGRESSION F-RATIO 1973.2123

INDEX SYSTEM ERROR -31.8450



Constituent: LACTOSE (%)

Filter Selection

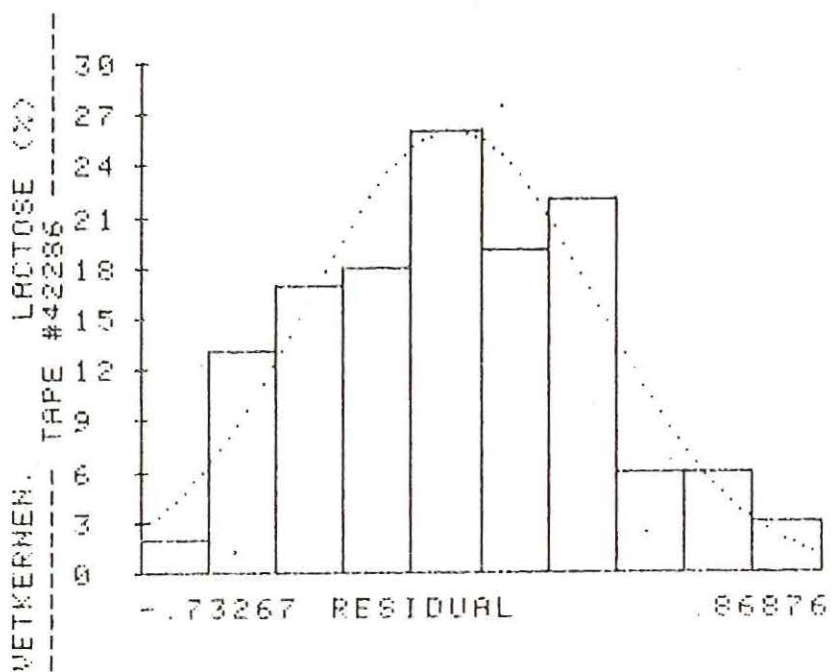
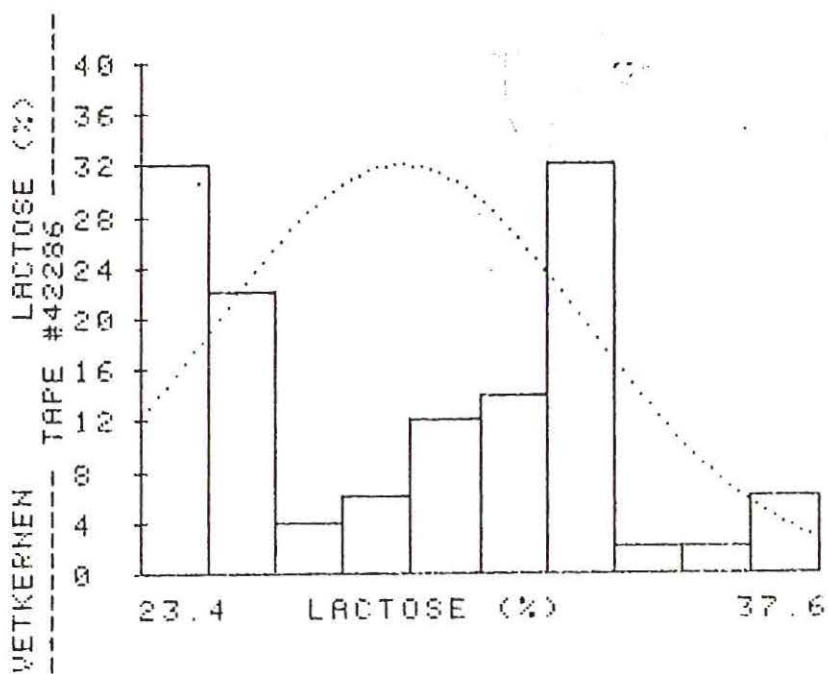
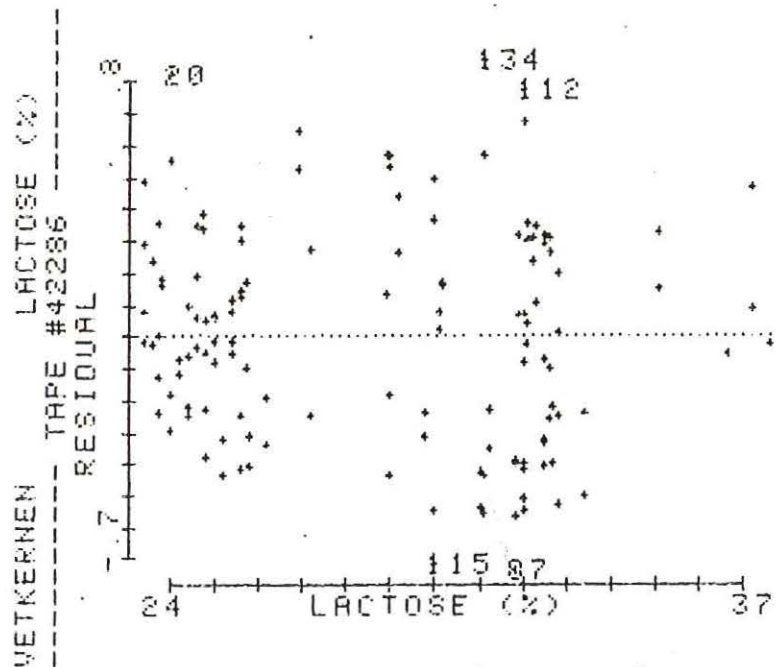
2 4 9 12 14 15 17 18
20

9 Regression Variables and
132 Records included

VETKERNEN LACTOSE (%)
----- TAPE #42286 -----

COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	30.643	49.97
FILTER F02	185.870	6.00
FILTER F04	-182.290	8.03
FILTER F09	-679.840	14.91
FILTER F12	446.820	4.97
FILTER F14	816.860	19.30
FILTER F15	-1650.000	11.50
FILTER F17	118.030	2.69
FILTER F18	970.580	14.08
FILTER F20	-66.445	2.15

RESIDUAL STD. DEV.	0.3437
CORRELATION COEFF.	0.9962
REGRESSION F-RATIO	1757.7991
INDEX SYSTEM ERROR	-41.2160



Constituent: AS (%)

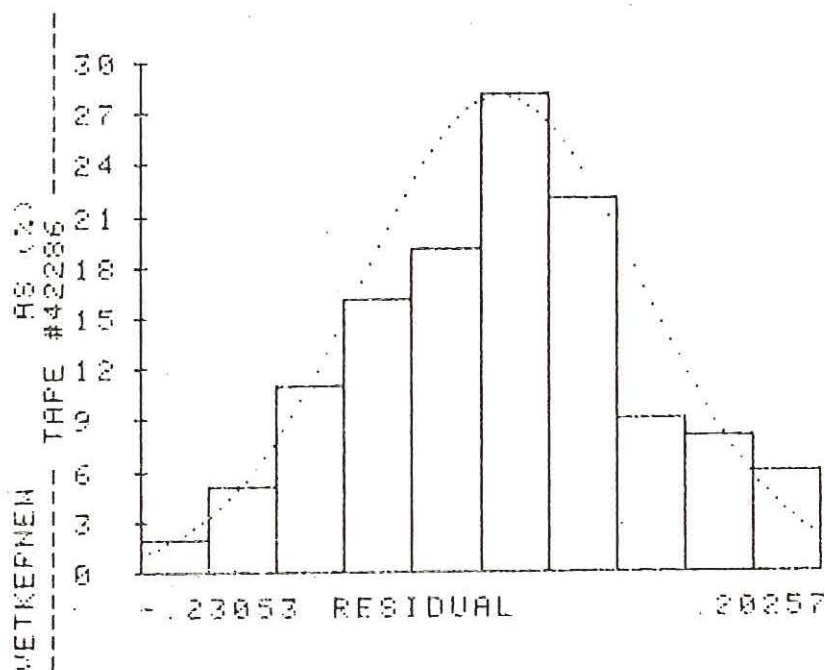
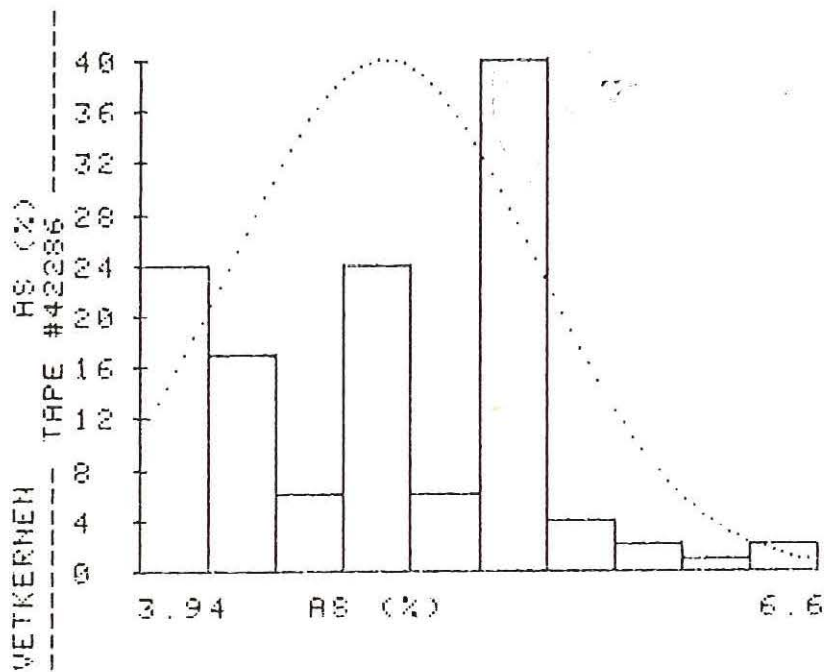
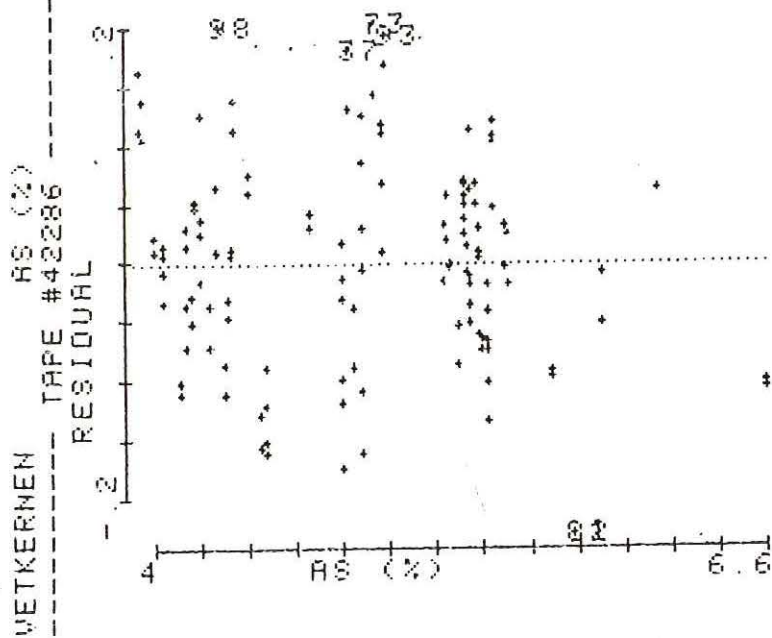
Filter Selection

2 4 5 6 7 8 12 15
17 18 19

11 Regression Variables and
126 Records included

VETKERNEH AS (%)
----- TAPE #42286 -----

COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	4.888	25.33
FILTER F02	-69.748	6.04
FILTER F04	53.565	5.88
FILTER F05	-79.966	8.94
FILTER F06	270.160	7.63
FILTER F07	-361.980	6.64
FILTER F08	213.660	5.63
FILTER F12	-242.970	6.47
FILTER F15	541.290	8.34
FILTER F17	-74.384	4.58
FILTER F18	-218.250	8.73
FILTER F19	-34.074	5.96
RESIDUAL STD. DEW.		0.0899
CORRELATION COEFF.		0.9887
REGRESSION F-RATIO		449.6682
INDEX SYSTEM ERROR		-2.6970



Constituent: VET (%)

Filter Selection

4 5 6 8 9 13 14 15
17 18

10 Regression Variables and
123 Records included

VETKERNEN VET (%)
----- TAPE #42286 -----

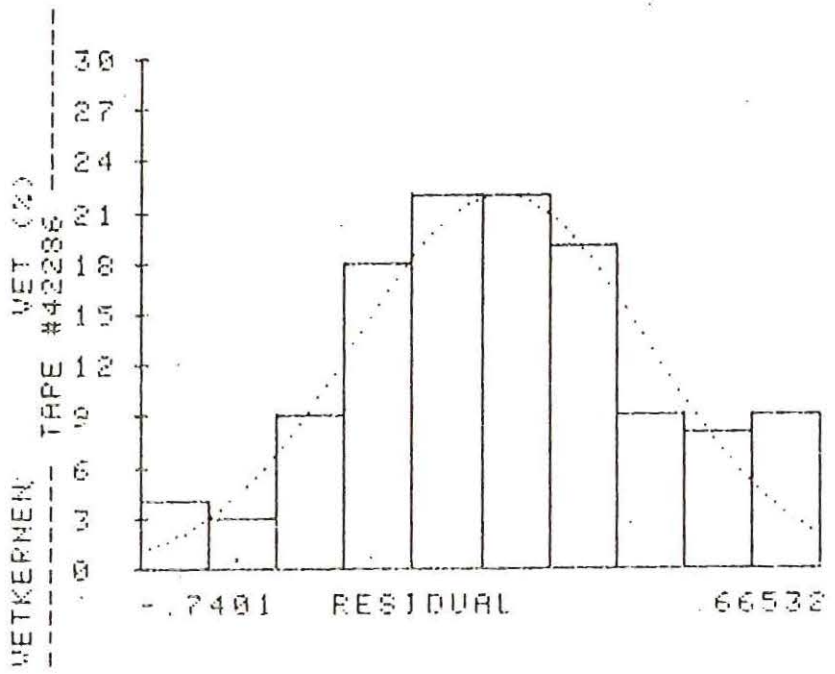
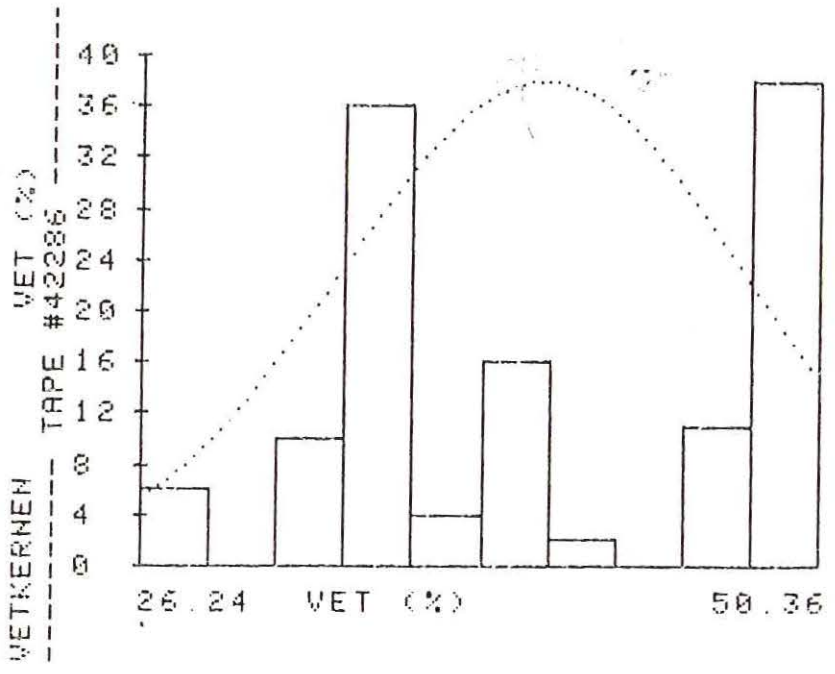
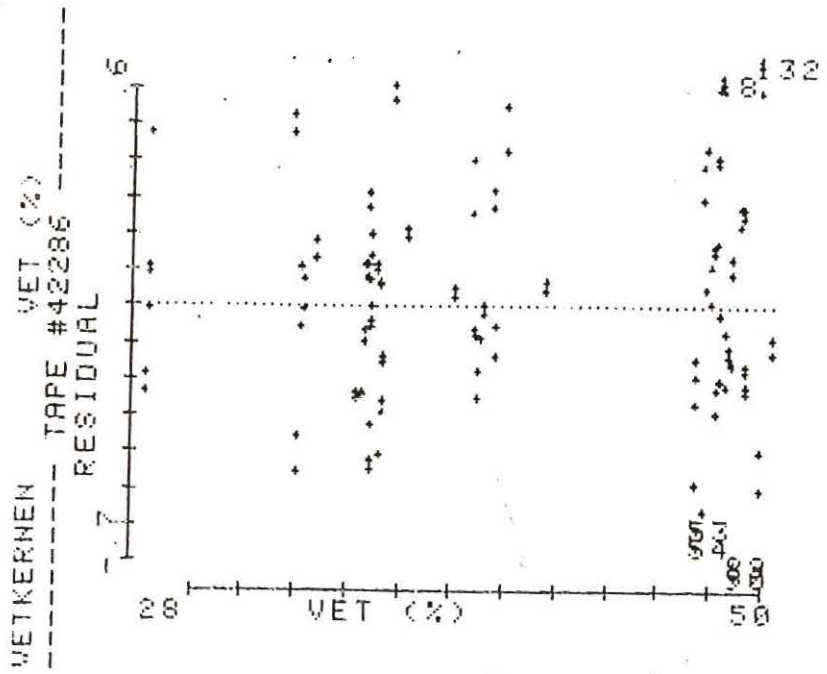
COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	44.566	67.04
FILTER F04	-52.540	2.63
FILTER F05	298.340	7.16
FILTER F06	-282.560	5.42
FILTER F08	-234.830	4.11
FILTER F09	465.490	3.36
FILTER F13	519.190	6.50
FILTER F14	-418.850	4.30
FILTER F15	-613.640	4.30
FILTER F17	78.839	1.72
FILTER F18	229.050	3.27

RESIDUAL STD. DEV. 0.3035

CORRELATION COEFF. 0.9991

REGRESSION F-RATIO 6254.9900

INDEX SYSTEM ERROR -11.5110



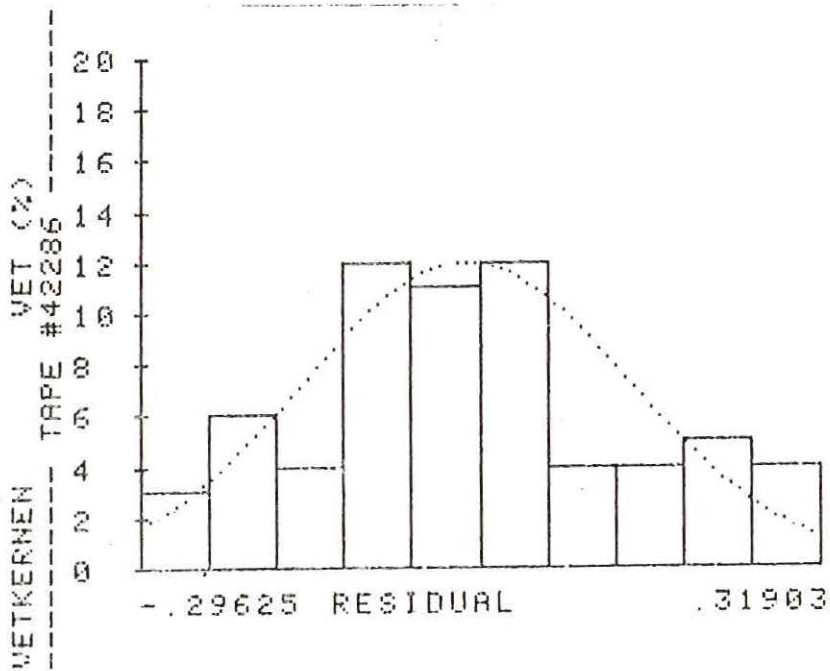
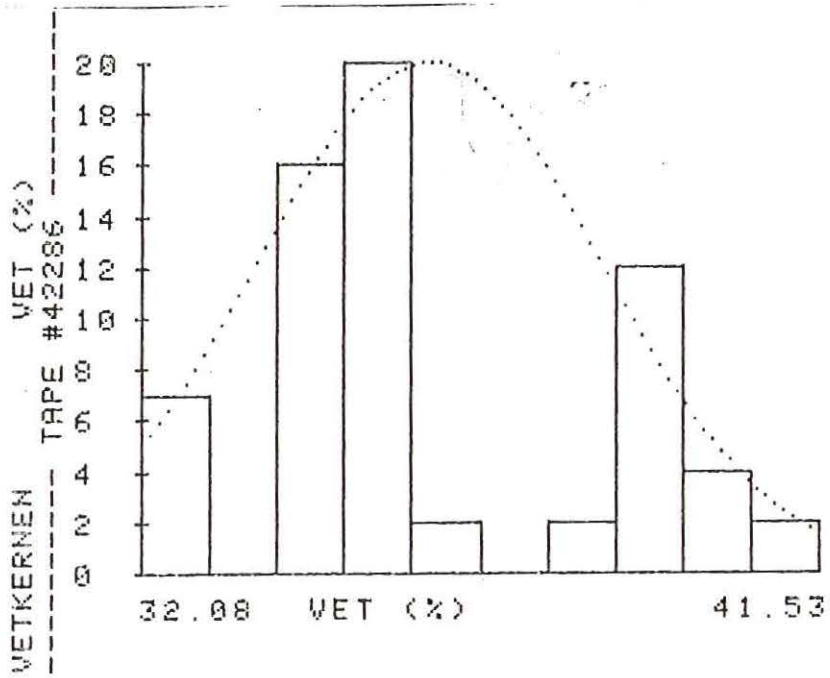
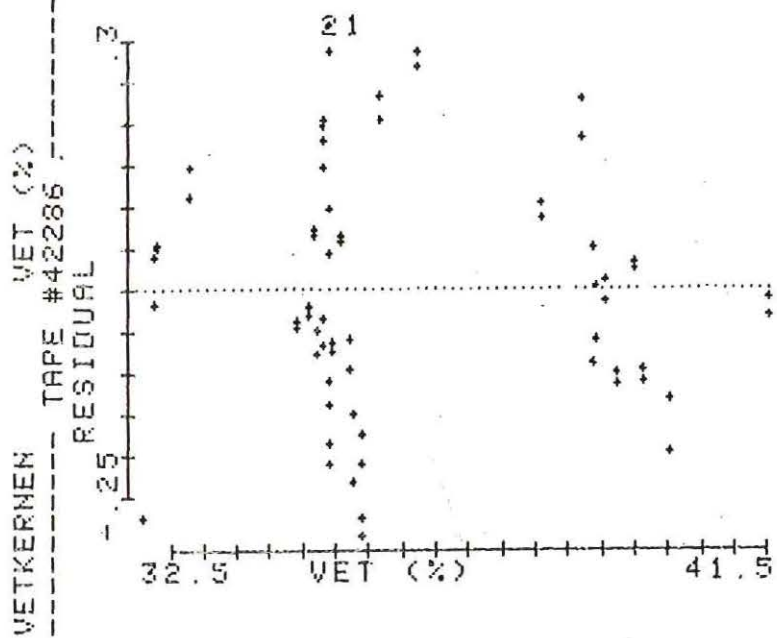
Constituent: VET (%)

Filter Selection

5 10 12 13 15 16 17

7 Regression Variables and
65 Records included

VETKERNEN		VET (%)
----- TAPE #42286 -----		
COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	39.859	71.48
FILTER F05	132.190	8.15
FILTER F10	-305.020	19.90
FILTER F12	311.570	3.81
FILTER F13	-642.320	6.03
FILTER F15	337.090	7.01
FILTER F16	12.083	5.70
FILTER F17	158.180	9.29
RESIDUAL STD. DEV.		0.1482
CORRELATION COEFF.		0.9981
REGRESSION F-RATIO		2159.7849
INDEX SYSTEM ERROR		3.7730



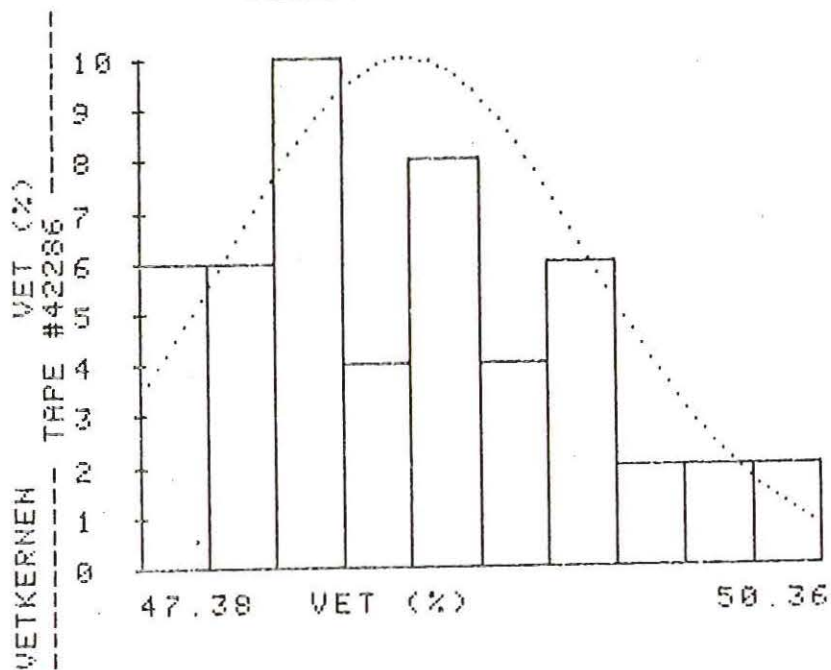
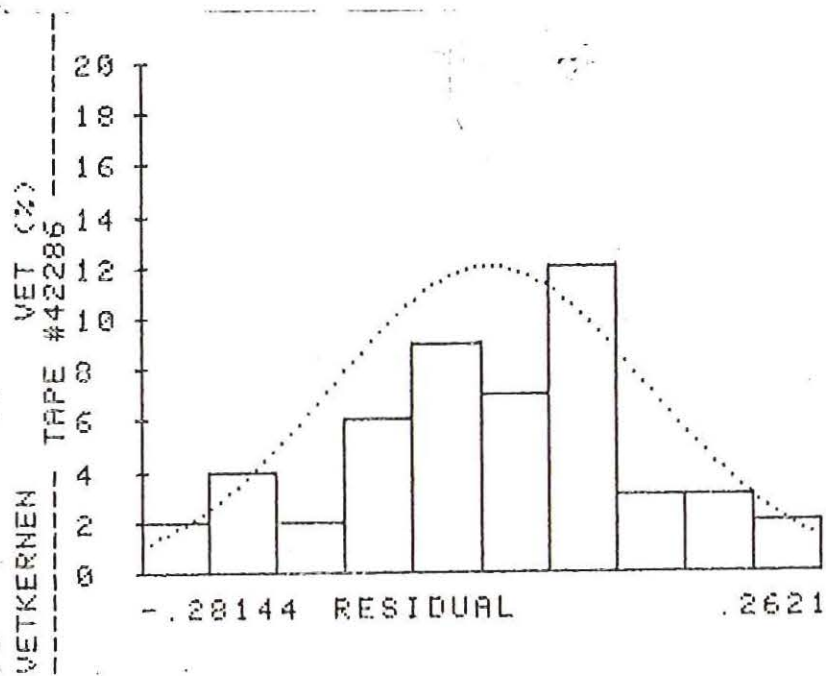
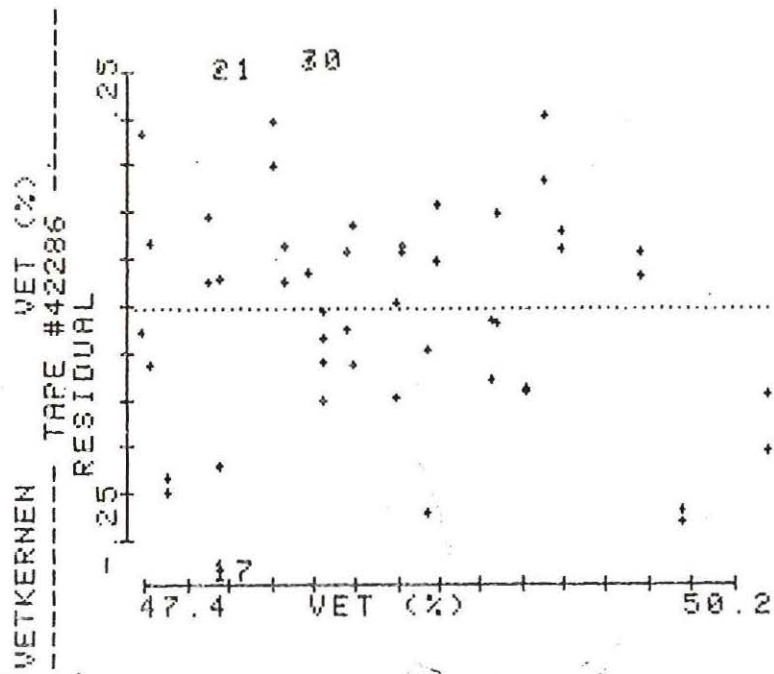
Constituent: VET (%)

Filter Selection

5 10 11 12 13 14 15 16
17 18 19 20

12 Regression Variables and
50 Records included

VETKERNEN		VET (%)
----- TAPE #42286 -----		
COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	46.376	140.01
FILTER F05	260.840	12.06
FILTER F10	-282.390	10.70
FILTER F11	178.220	4.49
FILTER F12	435.260	6.07
FILTER F13	744.670	10.80
FILTER F14	-142.700	6.46
FILTER F15	-1009.800	9.60
FILTER F16	-142.450	5.19
FILTER F17	-108.980	3.78
FILTER F18	357.070	7.77
FILTER F19	106.000	6.43
FILTER F20	-374.830	7.20
RESIDUAL STD. DEV.		0.1266
CORRELATION COEFF.		0.9875
REGRESSION F-RATIO		120.6944
INDEX SYSTEM ERROR		20.9100



Constituent: M.M.P. (%)

Filter Selection

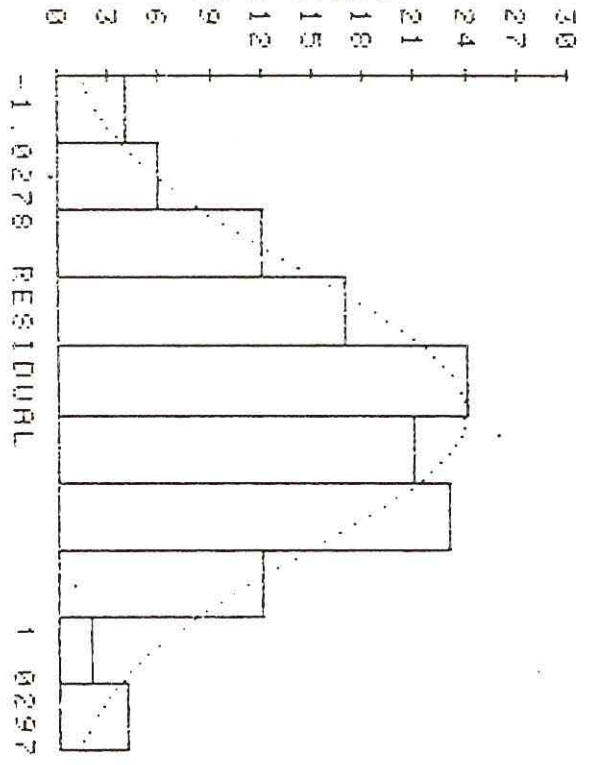
3 4 5 8 9 11 13 14
15 16 17 20

12 Regression Variables and
125 Records included

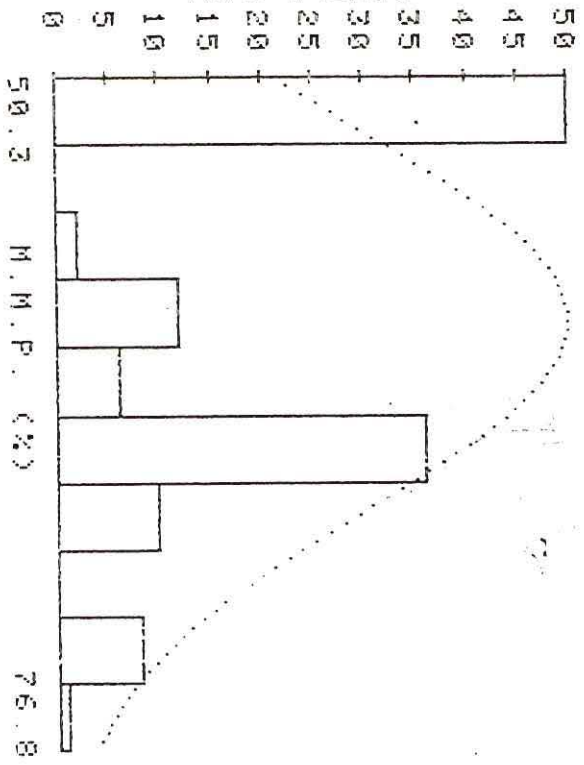
WETKERNEN M.M.P. (%)
----- TAPE #42286 -----

COEFFICIENT	VALUE	T-TEST
BIAS F00	58.924	60.51
FILTER F03	-176.390	2.33
FILTER F04	197.240	2.63
FILTER F05	-237.210	5.74
FILTER F08	596.430	9.72
FILTER F09	-1015.900	6.15
FILTER F11	147.250	2.62
FILTER F13	-613.080	7.32
FILTER F14	813.540	7.35
FILTER F15	826.330	5.38
FILTER F16	-97.013	2.56
FILTER F17	-327.880	2.91
FILTER F20	-134.610	3.13
RESIDUAL STD. DEV.		0.4256
CORRELATION COEFF.		0.9983
REGRESSION F-RATIO		2810.8950
INDEX SYSTEM ERROR		-21.2930

VETKERNEN M.M.P. (%)
 ----- TAPE #42285 -----



VETKERNEN M.M.P. (%)
 ----- TAPE #42285 -----



VETKERNEN M.M.P. (%)
 ----- TAPE #42285 -----

