Afdeling Algemene Chemie 1984-05-23

RAPPORT 84.59 Pr.nr. 505.6030

Onderwerp: Bepaling van de samenstelling van kaas m.b.v. Nabij Infrarood Reflectiespectroscopie (NIR).

Verzendlijst: direkteur, direktie VKA, sektorhoofd, afdeling AC (4x), afdeling Normalisatie (Humme), projektbeheer, projektleider.

8459

Afdeling Algemene Chemie Datum: 1984-05-23

RAPPORT 84.59 Pr.nr. 505.6030

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

Onderwerp: Bepaling van de samenstelling van kaas m.b.v. Nabij Infrarood Reflectiespectroscopie (NIR).

Doel:

Oriënterend onderzoek naar de mogelijkheid om m.b.v. NIR-spectroscopie de samenstelling van kaas te bepalen.

Samenvatting:

Van 145 verschillende kaasmonsters, bestaande uit 3 soorten, is de chemische samenstelling bepaald volgens de referentiemethoden en is met behulp van de Infra Alyzer-400 de reflectie gemeten bij 19 verschillende golflengten.

Met behulp van multiple regressie berekeningen zijn de correlatiecoëfficiënten en de standaardafwijkingen van de verschillen berekend voor de gehalten aan vocht, vet, eiwit, zout in de droge stof en smeltzout, alsmede de pH bepaald volgens de referentiemethoden en de Infra Alyzer-400.

Conclusie:

Op grond van berekende correlatiecoëfficiënten en standaardafwijkingen van de verschillen voor gehalten aan vocht, vet, eiwit, zout in de droge stof en smeltzout, alsmede de pH, bepaald volgens de referentiemethoden en de Infra Alyzer-400 kunnen vocht, vet en eiwit in kaas met behulp van NIR goed bepaald worden. Met de parameters zout in de droge stof, smeltzout en pH is dit niet het geval.

Verantwoordelijk: drs N.G van der Veen

Samensteller : R. Frankhuizen

Medewerkers : E.A.M. Boers, H.J. Korbee

Projektleider : R. Frankhuizen

1. Inleiding

Het gebruik van snelle methoden voor de bepaling van de samenstelling van zuivelprodukten kan leiden tot een toename van de kwaliteitscontrole tegen lagere kosten. Het is met name de Nabij Infrarood Reflectiespectroscopie die hieraan een bijdrage kan leveren.
Infrarood absorptiespectroscopie (IR) is als snelle analysemethode voor vet, eiwit en droge stof in melk een beproefde AOAC methode (1) en heeft al op ruime schaal intrede gedaan binnen de zuivelindustrie en controle-instellingen (2).
Deze techniek is echter alleen geschikt voor vloeibare monsters zodat kaas en andere vaste produkten in vloeibare vorm gebracht moeten worden voor analyse (3). Dit probleem kan ondervangen worden door gebruik te maken van reflectiespectroscopie.
Met reflectiespectroscopie wordt de intensiteit van licht, dat door het oppervlak van een monster wordt gereflecteerd, gemeten. Hierdoor is het in oplossing brengen van het monster overbodig geworden.
Recente ontwikkelingen op het gebied van de microprocessor-technologie hebben er toe geleid dat de techniek toepasbaar is geworden voor het analyseren van voedings- en voedermiddelen (4,5).
NIR reflectiespectra van caseine, boter en melkpoeder zijn vastgelegd door Goulden (6). Onderzoek is uitgevoerd naar de mogelijkheid om m.b.v. NIR de samenstelling van melkpoeder te bepalen (7,8,9).
Birth en Washam hebben onderzoek gedaan naar de reproduceerbaarheid van reflectiemeting aan kaas (10). Giangiacomo rapporteerde over verschillen in reflectiemetingen tussen kaas en het verpoederde gevriesdroogde produkt daarvan (11). Onderzoek van Frank en Birth laten een omvangrijke overlapping zien van NIR absorptiebanden van de hoofdbestanddelen van kaas, hetgeen typerend is voor NIR spectra van agrarische produkten (12). Het een en ander leidt tot het gebruik van meerdere (3 tot 9) golflengten om een bepaalde component in kaas te bepalen.
Het doel van dit onderzoek is na te gaan of m.b.v. NIR spectroscopie de samenstelling van Goudse-, Edammer- en smeltkaas voldoende nauwkeurig vast te stellen is. Daartoe zijn van 145 verschillende monsters kaas, bestaande uit 3 soorten, de gehalten aan vocht, vet, eiwit, zout in de droge stof en smeltzout, alsmede de pH volgens de referentiemethoden bepaald.

Tevens zijn de reflectiewaarden bij 19 verschillende golflengten (filters) gemeten en zijn m.b.v. multiple lineaire regressie analyse optimale golflengten (filters) geselekteerd voor de bepaling van de verschillende parameters.
Ter controle op de betrouwbaarheid van de calibraties zijn calibratietests uitgevoerd met een 10-tal kaasmonsters van bekende herkomst en onbekende samenstelling.

2. Materiaal en methoden

Monsters:

50 monsters smeltkaas (40^+), 60 monsters Goudse (48^+) kaas en 35 monsters Edammer (40^+) kaas, afkomstig van verschillende producenten, werden verzameld conform de monstername zoals beschreven in NEN norm 3751 (13) en voorbehandeld conform NEN norm 3752 (14). De monsters werden gemalen m.b.v. een Hobart molen, uitgerust met een kaaskop.

Chemische analyses:

Het gehalte aan vocht werd bepaald volgens de NEN 3755 droogstoofmethode (15). Het eiwitgehalte (totaal stikstof x 6,38) werd bepaald volgens de Kjeldahl-methode (16). Het vetgehalte werd bepaald volgens de S.B.R.-methode (vetextraktie na behandeling met zoutzuur) (17). Het zoutgehalte in de droge stof werd berekend uit het chloridegehalte bepaald volgens NEN 3762 (18) en het droge stofgehalte berekend uit het vochtgehalte (15).
Het smeltzoutgehalte werd berekend volgens NEN 3767 (19) uit het fosforgehalte bepaald volgens NEN 3766 (20) en het stikstofgehalte van het ruw-eiwitgehalte bepaald volgens NEN 3760 (16). De pH werd bepaald volgens NEN 3775 (21).
Alle bepalingen werden in duplo uitgevoerd.

Apparatuur:

De NIR-apparatuur bestond uit een Technicon Infra Alyzer-400 (IA-400) met 19 filters, gekoppeld aan een Hewlett Packard 85 (32 K Bytes) programmeerbare calculator.

NIR-analyse:
Alle monsters werden, bij gebruik van een open cup, in duplo ingelezen. De data, verkregen bij gebruik van alle 19 filters, werden opgeslagen op cassettetape in de log 1/R (R = reflectie) vorm.
Met behulp van multiple lineaire regressie werden filters geselekteerd die een hoge correlatie met de te analyseren component gaven. Van de berekende ijklijnen werden de multiple correlatiecoëfficiënten (R^2) en de standaardafwijkingen van de verschillen (S(V)) berekend.

3. Resultaten en discussie

In tabel 1 zijn de resultaten weergegeven van de calibraties en calibratietests van respektievelijk smelt-, Goudse- en Edammerkaas.
Voor het vochtgehalte werden multiple correlatiecoëfficiënten berekend van 0,97, 0,95 en 0,95 (= R^2) en standaardafwijkingen van de verschillen van 0,15, 0,21 en 0,25% (= S(V)) voor respektievelijk smelt-, Goudse- en Edammerkaas.
Voor het vetgehalte werden multiple correlatiecoëfficiënten berekend van 0,91, 0,86 en 0,93 (= R^2) en standaardafwijkingen van de verschillen van 0,14, 0,25 en 0,21% (= S(V)), voor respektievelijk smelt-, Goudse- en Edammerkaas.
Voor eiwit in smeltkaas werd een multiple correlatiecoëfficiënt (= R^2) berekend van 0,90 met daarbij een standaardafwijking van het verschil (= S(V)) van 0,31%.
Voor zout in de droge stof, smeltzout en pH werden eveneens calibratieberekeningen uitgevoerd waarvan de resultaten vermeld staan in tabel 1.
In tabel 2 zijn de resultaten weergegeven van een calibratie voor zout in Goudse- en Edammerkaas alsmede vocht en vet in Goudse-, Edammer- en smeltkaas.
De figuren 1 en 2 geven het verband weer van vocht en vet in Goudse-, Edammer- en smeltkaas, voorspeld door NIR en bepaald m.b.v. stoofdroging (15) respektievelijk de S.B.R.-methode (17). De correlatie tussen beide methoden is goed.

Edammerkaas (40^+)

	Vocht		Vet		Zout in d.d.s.	
	calibr.	test	calibr.	test	calibr.	test
N	35	10	35	10	35	10
R^2	0,95	0,96	0,93	0,92	0,76	0,75
S(V)	0,25	0,23	0,21	0,22	0,26	0,25
Aantal filters	4		5		6	
Range	40,5-47		21,4-25		3,2-5,8	

Tabel 2. Calibratie- en testgegevens van de Infra Alyzer-400 betreffende zout in Goudse- en Edammerkaas alsmede vocht en vet in Goudse-, Edammer- en smeltkaas

	Goudsekaas (48^+) + Edammerkaas (40^+)		Goudsekaas (48^+) + Edammerkaas (40^+) + smeltkaas (40^+)			
	zout in d.d.s.		Vocht		Vet	
	calibr.	test	calibr.	test	calibr.	test
N	95	20	145	30	145	30
R^2	0,88	0,84	0,99	0,96	0,99	0,93
S(V)	0,22	0,25	0,26	0,24	0,26	0,27
Aantal filters	8		9		6	
Range	2,8-5,8		40-51		20-31	

De multiple correlatiecoëfficiënten met de daarbij berekende standaardafwijkingen van de verschillen voor vocht, vet en eiwit zijn goed te noemen (tabel 1). Deze standaardafwijkingen zijn gelijk aan of slechts nauwelijks groter dan die verkregen met de referentiemethoden. Deze bedragen voor vocht ca. 0,15, voor vet ca. 0,15 en voor eiwit ca. 0,25. Deze lage multiple correlatiecoëfficiënten met de daarbij berekende standaardafwijkingen van de verschillen voor zout in de droge stof, smeltzout en pH laten zien dat deze parameters nauwelijks kwantitatief te bepalen zijn met behulp van NIR (tabel 1). Twee oorzaken zijn hiervoor aan te wijzen.

Ten eerste is de range van de gekozen calibratieset voor genoemde parameters smal. Vuistregel is dat de range van een calibratieset minimaal 20 maal de standaardafwijking van de referentiemethode moet bedragen.

Ten tweede is het niet duidelijk aan welke (nabij) infrarood absorpties deze parameters te relateren zijn.

Wellicht kan na voldoende uitbreiding in range NIR voor deze parameters wel gebruikt worden, hetgeen ondermeer valt af te leiden uit de verbeterde correlatiecoëfficiënt voor zout in de droge stof en de niet slechter wordende standaardafwijking van het verschil van de calibratie Goudse- en Edammerkaas ten opzicht van de afzonderlijke calibraties (tabel 1 en 2).
In tabel 2 staan tevens de resultaten vermeld van een calibratieberekening voor de combinatie Goudse-, Edammer- en smeltkaas voor de componenten vocht en vet. Zoals verwacht zijn de multiple correlatiecoëfficiënten vanwege een bredere range hoger geworden terwijl de standaardafwijkingen van de verschillen iets groter zijn geworden dan die van de afzonderlijke calibraties.
Ook dit ligt in de lijn der verwachtingen, immers de grootste nauwkeurigheid wordt bereikt wanneer het instrument voor elke kaassoort apart gecalibreerd wordt, dit vanwege de grotere fysische homogeniteit van de monsters.

Calibratietest:

Alle afzonderlijke calibraties werden getest met 10 onbekende monsters. Zowel de multiple correlatiecoëfficiënten als de standaardafwijkingen van de verschillen van vet, vocht en eiwit stemmen goed overeen met die van de calibraties.
De multiple correlatiecoëfficiënten van zout in de droge stof, smeltzout en pH zijn laag en niet geheel in overeenstemming met die van de calibraties. Kwantitatieve bepaling van deze parameters met behulp van NIR lijkt dan ook niet mogelijk, hetgeen ook tot uiting komt in de standaardafwijkingen van de verschillen (tabel 1 en 2).

4. Samenvatting en conclusie

Het gebruik van snelle methoden voor de bepaling van de samenstelling van zuivelprodukten kan leiden tot een toename van de kwaliteitscontrole tegen lagere kosten. Het is met name de Nabij Infrarood Reflectie spectroscopie die hieraan een bijdrage kan leveren.
Het doel van dit onderzoek was na te gaan of met behulp van NIR-spectroscopie de samenstelling van kaas vast te stellen is.

Hiervoor werden correlaties van vocht, vet, eiwit, zout in de droge stof, smeltzout en de pH berekend tussen de referentiewaarden en de reflectiewaarden bij de door de computer geselekteerde golflengten van 145 monsters kaas, bestaande uit drie soorten.
De hoge correlaties berekend voor vet-, vocht en eiwitgehalten bepaald met de referentiemethoden en de Infra Alyzer tonen aan dat NIR goed gebruikt kan worden voor de bepaling van genoemde componenten in kaas.
De correlatiecoëfficiënten met de daarbij berekende standaardafwijkingen van de verschillen voor zout in de droge stof, smeltzout en pH laten zien dat deze parameters nauwelijks te bepalen zijn met behulp van NIR.
De resultaten geven ook een indicatie dat de grootste nauwkeurigheid wordt bereikt wanneer het instrument voor elke kaassoort apart gecalibreerd wordt, vanwege de grotere fysische homogeniteit van de monsters.

Summary and conclusion

R. Frankhuizen and N.G. van der Veen. State Institute for Quality Control of Agricultural Products, Wageningen, The Netherlands. Compositional Analysis of Cheese by Near Infrared Reflectance Spectroscopy.

The use of fast methods for compositional analysis of dairy products could lead to increased marketing efficiency and decreased quality control costs. Especially Near Infrared Reflectance Spectroscopy can contribute to these benefits.
The objective of this study was to measure the reliability of Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIR) for determining cheese composition.
To measure the content of protein, fat, moisture, salt (in dry matter), melt-salt and pH, by NIR, filters giving the most accurate results in comparison with results obtained by the reference methods, are selected by linear regression analysis on 145 cheese samples of three varieties.
High correlation of reflectance with fat, moisture and protein composition indicate a potential use of NIR to estimate these constituents in cheese samples.
Correlations of reflectance with salt (in dry matter), melt-salt and pH indicate that use of NIR to estimate these constituents is hardly possible.
The results also indicate that the most accurate predictions of cheese composition are obtained, when the instrument is calibrated for each specific cheese variety, because of the greater physical homogeneity of samples.

References

1. Biggs, D.A.: Precision and accuracy of infrared milk analysis. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 55 (1972) 488.
2. McGann, T.C.A.: Automated physicochemical methods for the analysis of milk - A review of major advances (1966-1978). Irish J. Food Sci. Technol. 2 (1978) 141.
3. Biggs, D.A.: Applications of infrared instrumentation in cheese analysis (1979) 409-414 in Proc. 1st Bienn. Marschall Int. Cheese Conf. Marschall Dairy Ingred. Div., Miles Lab., Inc., Madison WI (1979) p.409-414.
4. Landa, I.: High energy spectrophotometer for rapid constituent analysis in the range of 0.25-2.4 µm. Rev. Sci. Instrum. 50 (1979) 34.
5. McClure, W.F. and A. Hamid 1980: Rapid NIR measurement of the chemical composition of food and food products. Part 1, hardware. Am. lab 12 (1980) 57.
6. Goulden, J.D.S.: Diffuse reflectance spectra of dairy products. J. Dairy Sci. 24 (1957) 242.
7. Frankhuizen, R., E.A.M. Boers and H. Oortwijn: The determination of the composition of skim milkpowder by Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIR). Zuivelzicht, 75 (1983) 210.
8. Frankhuizen, R., E.A.M. Boers and H. Oortwijn: The determination of the composition of buttermilk-powder by Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIR). Zuivelzicht, 75 (1983) 547.
9. Bear, R.J. et al.: Compositional Analysis of Nonfat Dry Milk by Using Near Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 4 (1983) 66.
10. Birth, G.S. and C.J. Washam: Optical properties of Blue cheese as affected by aging. J. Dairy Sci. 60 (1977) 57.
11. Giangiacomo, R., D. Torreggiani, J.F. Frank, M. Loewestein and G.S. Birth: Analysis of Blue cheese using infrared reflectance spectroscopy. J. Dairy Sci. 62 (1979) 39.
12. Frank, J.F. and G.S. Birth: Application of Near Infrared Reflectance Spectroscopy to cheese analysis. J. Dairy Sci. 65 (1982) 1110.

13. NEN 3751: Cheese - Physical and chemical test methods - Sampling.
14. NEN 3752: Cheese - Physical and chemical test methods - Preparation of the test sample.
15. NEN 3755: Cheese - Physical and chemical test methods - Determination of the moisture content (routine method).
16. NEN 3760: Cheese - Physical and chemical test methods - Determination of the nitrogen content according to Kjeldahl - Calculation of the crude protein content.
17. NEN 3757: Cheese - Physical and chemical test methods - Determination of the fat content (reference method).
18. NEN 3762: Cheese - Physical and chemical test methods - Determination of the chloride content (routine method).
19. NEN 3767: Cheese - Physical and chemical test methods - Calculation of the content of added phosphate salts in processed cheese products.
20. NEN 3766: Cheese - Physical and chemical test methods - Determination of the phosphorus content.
21. NEN 3775: Cheese - Physical and chemical test methods - Determination of the pH.