

***Kristallisaties en
biofotonen***

*Verschillen in melkkwaliteit
tussen biologische bedrijven in
beeld gebracht*

*Anneke de Vries
Jan de Wit*

© [2007] Louis Bolk Instituut

Kristallisaties en biofotonen, Verschillen in melkkwaliteit tussen biologische bedrijven in beeld gebracht, Anneke de Vries & Jan de Wit, 29 pagina's, zoekwoorden: biofotonen, biologisch, koe, kristallisatie, kwaliteit, melk; dit rapport is te bestellen via www.louisbolk.nl onder vermelding van publicatienummer LV67

Voorwoord

Ik wil de 15 melkveehouders die hebben deelgenomen aan dit onderzoek hartelijk danken voor het verstrekken van alle gewenste informatie. Ook vanuit de fabrieken werd de nodige alertheid gevraagd om de melkmonsters op de juiste momenten te nemen en dat is (bijna altijd) goed gelukt. Dank voor jullie inzet. Wie ik ook niet wil vergeten, zijn de medewerkers van het MCS (Robin Eysink) en het COKZ. Het was een zeer plezierige samenwerking en bedankt voor jullie inzet.

De monsternames, bepalingen en eerste analyses zijn uitgevoerd in het kader van het project "Productkwaliteit Zuivel Onderscheidendheid" dat deel uit maakt van het onderzoeksprogramma Biologische Veehouderij, BO-04-002. Het Louis Bolk Instituut en Wageningen UR zijn hoofduitvoerders van dit programma, dat wordt aangestuurd door Bioconnect, het kennisnetwerk van de Biologische Landbouw en Voeding in Nederland, en gefinancierd door de Directie Wetenschap en Kennisoverdracht van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit. De rapportage en de her-analyse zijn uitgevoerd als intern gefinancierd project.

Anneke de Vries

Inhoud

Voorwoord	3
Inhoud	5
Samenvatting	7
Summary	9
1 Inleiding	11
1.1 Doelstelling	11
1.2 Methode	11
1.3 Voedingskristallisaties	12
1.4 Biofotonen	14
2 Resultaten	17
2.1 Kristallisaties	17
2.2 Biofotonen	20
3 Discussie	25
4 Conclusie	27
Literatuur	29
Bijlage 1: Lijst met bedrijfs- en gezondheidsgegevens	
Bijlage 2: Resultaten Kristallisatiemeting	
Bijlage 3: Resultaten Biofotonenmeting	
Bijlage 4: Resultaten Regressieanalyse Kristallisatie	
Bijlage 5: Resultaten Regressieanalyse Biofotonen	

Samenvatting

In dit rapport worden de resultaten beschreven van een onderzoek naar de mogelijkheden voor een bredere (kwaliteits)profilering van de biologische zuivel. Biofotonen en kristallisaties worden gezien als mogelijke vernieuwende kwaliteitsconcepten. Deze zijn niet gebaseerd op inhoudsstoffen, maar zouden een uitdrukking zijn van de vormkracht van het product. In het onderzoek is gekeken of de biofotonen- en voedingskristallisatie-analyses een bijdrage kunnen leveren aan de profilering van biologische zuivel als een verbreed kwaliteitsconcept van biologische melk. Onderzoeksvragen hierbij waren of er bedrijfs- en seizoensverschillen zijn en met welke bedrijfskenmerken, de potentieel vernieuwende analyses verband houden, zodat hierop gestuurd kan worden.

De analysemethode waarbij gebruikt gemaakt is van de kristallisatiebeelden van melk heeft laten zien dat:

- Er een seizoenseffect is voor het kenmerk Afwezigheid van Precipitaties. Echter een effect van het meetmoment lijkt hier waarschijnlijk door het grote verschil tussen de herfst '05 en de herfst '06
- Er een seizoenseffect is voor het kenmerk Doorstraling
- De scores voor de kenmerken varieert tussen- en ook binnen bedrijven
- Er echter geen duidelijke relatie is gevonden tussen de kristallisatiekenmerken en de bedrijfs- en gezondheidsgegevens.

Samenvattend heeft de biofotonen-analyse geresulteerd in het inzicht dat:

- De intensiteit (delayed luminescentie) het meest duidelijke fluctueert door het seizoen
- Dat deze fluctuatie per bedrijf kan verschillen
- Een deel van de variantie voor het Intensiteittraject 3-5s en de Afwijking van de hyperbool verklaard kan worden door de factoren "vet", "lactose" en "ureum" en waarbij de factor "bedrijf" geen significante bijdrage heeft
- De effecten van de factoren "vet" en "ureum" overeenkomen met de verschillen in vet- en ureumgehalte tussen de zomer en de winter (zomer: vet laag, ureum hoog).

Bij beide methoden lijkt er een verschil te zijn tussen bedrijven. Voor enkele kristallisatiekenmerken is de factor "bedrijf" significant, echter met een groot deel onverklaarde variatie. Voor de biofotonenmethode is "bedrijf" niet significant, maar is er met name variatie binnen het bedrijf met duidelijke seizoenseffecten. Voor de kristallisatiemethode zijn (nog) geen verklarende factoren gevonden die van invloed zijn op de vormkracht van melk. Daarmee blijft onduidelijk hoe gestuurd kan worden op de productie van melk met een hoog gewaardeerd kristallisatiebeeld. Met het laatste inzicht dat het mengen van melk niet een goed gemiddelde geeft van de beelden van melk van individuele koeien, lijkt de kristallisatie analyse (nog) niet geschikt om ingezet te worden voor een verbreding van het kwaliteitsconcept van biologische tankmelk. Het toepassen van de methode op de melk van individuele dieren kan mogelijk wel meer inzicht geven in de factoren die van invloed zijn op het kristallisatiebeeld.

De biofotonen methode heeft in dit onderzoek laten zien dat de capaciteit van de melk om energie-kwanten op te slaan en vast te houden deels samenhangt met het vet, lactose en ureum gehalte van het product. Het

blijft echter onduidelijk hoe de resultaten voor de verschillende parameters met elkaar samenhangen en hoe deze geïnterpreteerd moeten worden. Het is daarom belangrijk om hier meer duidelijkheid over te krijgen.

Voor zowel de kristallisatie- als de biofotonen methode geldt dat op dit moment, op basis van de resultaten uit dit onderzoek, beide methodes niet in te zetten zijn voor een verbreding van het kwaliteitconcept voor biologische tankmelk.

Summary

This report describes the results of a research project about the possibilities for a broader (quality) presentation of organic dairy. Biophotons and biocrystallisations are seen as possible innovative quality concepts. These are not based on contents matter, but related to the hypothesis that the structure of food is as important as the physical composition. The aim of the research was to investigate whether the biophotons and biocrystallisation analyses can contribute to the distinguish ability of organic dairy products, by expanding the quality concept of organic dairy. Research questions herewith were if there are farm- and seasonal differences and to which farm characteristics these potential innovative analyses relate.

The analysis method where biocrystallisation images of milk are used has showed that:

- There is a seasonal effect for the characteristic "Absence of Precipitations". However an effect of the measuring moment seems likely, because of the large difference between Autumn'05 and Autumn '06.
- There is a seasonal effect for the characteristic "Perradiation"
- The scores of the characteristics range between- and also within farms
- There is no clear relation between the biocrystallisation characteristics and the farm- and health data.

In conclusion the biophoton analyses resulted in the insight that:

- The intensity (delayed luminescentie) varies most clearly throughout the entire season
- This fluctuation differs per farm
- A part of the variance for the intensity 3-5s and the Absence of the Hyperbole can be clarified through the factors "fat", "lactose" and "ureum" with no significant contribution of the factor "farm".
- The effects of the factors "fat" and "ureum" correspond with the differences in the fat- and ureumlevel between the summer and the winter (summer: fat low, ureum high).

With both methods there seem to be differences between farms. For some biocrystallisation characteristics "farm" as a factor is significant in the regression analyses, however with a substantial part unexplained variance. The biophoton analyses shows no significant "farm" effect, but shows mainly variance within farms with a significant seasonal effect. For the crystallisation method no explaining factors are found. With the latest knowledge that the average of the score for the images of mixed milk, differs from the average of the milk of the individual cows, the biocrystallisation analysis seems not (yet) suitable to be used for expanding the quality concept of organic milk. Using this method for the analyses of the milk of individual cows can possibly give more insight in the factors which have effect on the biocrystallisation image.

The biophotons method has shown in this research that the capacity of milk to store energy and retain them partly relates with the fat, lactose and ureum level of the product. Though it is still unclear how the results of the different parameters correspond with each other and how these can be interpreted.

In conclusion, at this moment, based on the results of this research, both methods are not (yet) suitable to be used for expanding the quality concept of organic tank milk.

1 *Inleiding*

Het onderzoek, dat beschreven wordt in dit rapport, maakt deel uit van het project "Productkwaliteit Zuivel Onderscheidendheid". Binnen dit project is onder meer onderzoek gedaan naar de mogelijkheden om met voercomponenten te sturen op de vetzuursamenstelling van biologische koemelk (De Vries & J. de Wit, 2006). De CLA en omega-3 gehaltes zijn in biologische melk hoger dan in gangbare melk (Slaghuis et al., 2006) en daarmee een goed onderscheidend criterium voor biologische melk. Maar binnen de biologische sector is het gehalte van goede vetzuren nogal wisselend en meer inzicht in de mogelijkheden om de vetzuursamenstelling te sturen was/is dan ook gewenst. Daarbij is het onderscheid tussen biologisch en gangbaar ook beperkt gezien de recente ontwikkelingen bij Campina. De doelstellingen met hun gangbare eigenmerk zuivel (100% meer omega-3 vetzuren) zijn hoger dan de vastgestelde verschillen tussen biologische en gangbaar (ruim 60% verschil). Een profilering van biologische melk en kaas op basis van de hogere gehaltes CLA en omega-3, lijkt dan ook onvoldoende om onderscheidend te blijven. In dit rapport worden de resultaten beschreven van een onderzoek naar de mogelijkheden voor een bredere (kwaliteits)profilering van de biologische zuivel.

Biofotonen en kristallisaties worden gezien als mogelijke vernieuwende kwaliteitsconcepten. Deze zijn niet gebaseerd op inhoudsstoffen, maar zijn een uitdrukking van de vormkracht van het product. De voedingskristallisatie methode, ook wel bekend als de koperchloride kristallisatiemethode, is ontwikkeld vanuit de visie dat levende organismen naast inhoudsstoffen, ook een innerlijke structuur hebben, die samenhangt met de teeltwijze en ontwikkeling van een organisme. Met de voedingskristallisatie methode is deze structuur zichtbaar te maken.

De biofotonen-analyse van een product leidt tot een uitbreiding van de kwaliteitscontrole met een beoordeling van de kwaliteit van innerlijke samenhang van het product. Ieder product van biologische afkomst heeft het vermogen om energie-kwanten (fotonen) voor een langere tijd op te slaan. De biofotonen meetmethode maakt gebruik van dit principe.

1.1 *Doelstelling*

Onderzoeken of de biofotonen- en voedingskristallisatie-analyses een bijdrage kunnen leveren aan de profilering van biologische zuivel als een verbreed kwaliteitsconcept van biologische melk. Onderzoeksvragen hierbij zijn of er bedrijfs- en seizoensverschillen zijn en met welke bedrijfskenmerken de potentieel vernieuwende analyses verband houden, zodat hierop gestuurd kan worden.

1.2 *Methode*

Metingen

In de periode september 2005 tot en met november 2006 is per kwartaal een tankmelkmonster genomen op 15 melkveebedrijven. In totaal zijn er vijf seizoensmonsters genomen per bedrijf en de meetmomenten waren; oktober 2005 (herfst '05), februari 2006 (winter), mei (lente), augustus (zomer) en oktober 2006 (herfst '06).

De deelnemende bedrijven zijn leveranciers van de twee kaasfabrieken Aurora en Hooidammer. Negen bedrijven bevinden zich in het oosten van Nederland en zes bedrijven in het noorden.

De tankmelk is afkomstig van vier of zeven melkbeurten. Dit is afhankelijk van het aantal ophaaldagen van de deelnemende fabrieken. Bij de start van het project was het aantal melkbeurten in de tank gelijk voor de fabrieken, maar gedurende het jaar (net voor de zomermeting) is bij één van de fabrieken de frequentie van melkophalen verhoogd, waardoor er minder melkbeurten in een tank zaten.

Gegevens verzamelen

De veehouders hebben bij ieder meting een vragenlijst ingevuld, met daarop de schattingen van de gevoerde rantsoenen in de week voorafgaand aan de bemonstering. Daarnaast is in mei 2006 een bezoek gebracht aan alle bedrijven, waarbij aan de hand van een vragenlijst gegevens zijn verzameld over de veestapelsamenstelling en de gezondheidsstatus van de koeien. In bijlage 1 staat een overzicht van alle bedrijfs- en gezondheidsgegevens, die gebruikt zijn voor de analyses.

Analyses

Aan het melkmonster zijn metingen gedaan met de kristallisatie en biofotonen-methode. Beide methodes richten zich op de innerlijke structuur of samenhang van een product. In de volgende paragrafen worden deze methodes kort beschreven. Vervolgens is gekeken of er bedrijfs- en seizoensverschillen zijn in de resultaten van deze onderzoeksmethodes. Met behulp van regressieanalyse ($p < 0,05$) is gekeken of de resultaten van biofotonen en kristallisaties verband houden met één of meerdere van de bedrijfs- (incl. ras, voer, lactatiestadium en melkgehalten) of gezondheidsgegevens.

1.3 Voedingskristallisaties

Kristallisaties worden bereid door het mengen van het sap (melk), met koperchloride. Dit mengsel verdampt en kristalliseert onder gecontroleerde omstandigheden. Deze structuur is productspecifiek, maar kan binnen een voedingsproduct heel verschillende vormen aannemen. De ontstane beelden worden vervolgens visueel beoordeeld.

In samenwerking met twee Europese collega onderzoeksinstituten, heeft het Louis Bolk Instituut (LBI) in de periode 2002/2004 gewerkt aan de standaardisering van de methode, evenals het valideren van de beoordelingen aan verschillende voedingsproducten (Busscher et al., 2006).

Procedure van de meting

Een hoeveelheid van 250 ml melk wordt gekoeld aangeleverd. Hiervan wordt 50 ml in een bekersglas in een waterbad gezet van 20 graden Celsius gedurende 30 minuten. De opgewarmde melk wordt gemengd met water en koperchloride. Vervolgens wordt een beetje melk in ronde, glazen schaaltes gepipetteerd en in de kristallisatiekamer geplaatst. Van ieder monster worden 2-3 schaaltes geplaatst. De gehele procedure wordt een dag later nog een keer herhaald, zodat van ieder melkmonster 4-6 beelden beschikbaar zijn. Zie figuur 1 voor een voorbeeld van een kristallisatiebeeld.

Parameters

In de visuele beoordeling wordt allereerst in algemene zin het 'beeldvormend vermogen' beoordeeld, d.w.z. de mate waarin het product het koperchloride naar "zijn hand kan zetten" en "overwinnen". De beelden worden vervolgens beoordeeld op een 10-tal textuele en structurele morfologische criteria en er wordt een Rapportcijfer gegeven voor het complete beeld. Alle scores worden uitgedrukt in een geheel getal op een schaal van 1 tot 10. De melk krijgt een beoordeling op basis van het gemiddelde van twee cijfers, voor iedere gemaakte serie één en daardoor kan het zijn dat het uiteindelijke cijfer een half getal is.

Hieronder zijn twee kristallisatiebeelden weergegeven als voorbeeld, waarbij het beeld links als Rapportcijfer een 5 heeft en het rechter beeld een 7 scoort.

Niet alle kenmerken zijn van toepassing op ieder product en voor melk zijn de volgende vier kenmerken het meeste onderscheidend:

- *Coördinatie*: de mate waarin het kristallisatiebeeld gecoördineerd/gedirigeerd wordt vanuit het beeldcentrum (1= zwak en 9=sterk).
- *Doorstraling*: de kracht en de reikwijdte van het gebaar van de hoofdnaaldbanen, vanuit het centrum naar de periferie toe (1= zwak en 9=sterk).
- *Afwezigheid van Precipitaties*: de mate van afwezigheid van precipitaties of klontjes in het kristallisatiebeeld (1=veel en 9=geen).
- *Afwezigheid van Vlechtwerk*: de mate waarin dichte/ingeweven structuren zonder duidelijk onderscheidbare naaldbanen in het kristallisatiebeeld gevonden worden (1=veel en 9=geen).



Kristallisatiebeeld met Rapportcijfer 5



Kristallisatiebeeld met Rapportcijfer 7

Figuur 1. Kristallisatiebeelden

1.4 Biofotonen

Ieder product van biologische afkomst heeft het vermogen om energie-kwanten (fotonen) voor een langere tijd op te slaan. De energie opslagcapaciteit wordt bepaald met behulp van het verschijnsel van "vertraagde (delayed) luminescentie"¹. Voor het meten van "delayed luminescentie" wordt een product blootgesteld aan energie, bijvoorbeeld een hoeveelheid licht (excitatie). Vervolgens wordt in het absolute donker gemeten hoe deze energie geleidelijk aan weer vrijkomt uit het product, als uitgestraalde lichtkwanten (fotonen). Voor de beoordeling van de kwaliteit van innerlijke samenhang met behulp van vertraagde luminescentie is het verloop van de uitstraling van fotonen op lange termijn van belang. Vooral de langdurige energieopslag na het aanstralen met licht levert informatie over de efficiëntie van energieopslag van het product.

Procedure van de meting²

De melk is gekoeld (ongeveer 7 graden Celsius) aangeleverd. De proefopzet bestaat uit een fotomultiplier waarin een carrousel opstelling is gebouwd. Deze carrousel heeft ruimte voor 16 samples. Uit iedere fles met 500 ml melk, wordt 10 ml gepipetteerd in een kristallen cuvet en er wordt gewacht tot de melk op kamer temperatuur is. Na iedere meetronde worden de cuvetten schoon gemaakt en opnieuw met de melk gevuld. Alle 15 monsters kunnen in één ronde worden gemeten en van ieder monster worden vier onafhankelijke metingen gedaan.

De melk wordt gedurende een korte, vaste tijd met licht uit een specifiek deel van het spectrum aangestraald. Het einde van de bestraling wordt elektronisch gemarkeerd (tijdstip 0). De actuele registratie van de "delayed luminescentie (DL)" start direct na de belichting en vindt plaats tot 200 seconden na tijdstip 0, in periodes van 0,2 seconde, in totaal 1000 waarden per curve.

Parameters

De curven van de vier monsters afkomstig van hetzelfde melksample worden gemiddeld. De gemiddelde curve wordt gebruikt voor de berekening van de volgende grootheden.

- Intensiteit door middel van de gemiddelde Delayed luminescentie (DL) in periode 3-5 sec (s), 8-50 s, 100-200 s, 8-200 s
- Hyperboliciteit/Coherentie
- Energetische domeingrootte

¹ De methode beschrijft de micellaire structuur van melk aan de hand van kwantitatieve parameters van de levensduur van UV-geïnduceerde radicaalmoleculen, voornamelijk singlet moleculaire zuurstof. De micellaire structuur bepaalt de levensduur van de singlet molecular oxygen (O₂(¹Δg)). De detectie van de levensduur vindt plaats door meting van de ultra-zwakke long-term delayed fotonen emissie in de tijd na afloop van de excitatie (Martinez et al, 2000).

² Uitgevoerd door Meluna Biofotonen onderzoek, www.meluna.nl

Intensiteit

De gemiddelde intensiteit is bepaald voor de delayed luminescentie in het tijdsbestek van 3-5 s, 8-50 s, 100-200 s en 8-200 s. Hoe hoger de intensiteit in het traject 3-5s, des te groter is de hoeveelheid licht die in het product opgeslagen kan worden. De betekenis van de intensiteit 8-50s is niet duidelijk en die voor de trajecten 100-200s en 8-200s, komt met name tot uitdrukking in de energetische domeingrootte.

Hyperboliciteit/Coherentie

Het curveverloop is verder beoordeeld door de afwijking van de hyperbool vast te stellen in het traject van 1-50 s. Geen afwijking van de hyperbool correspondeert met een afwijkingswaarde van nul. Een meer positieve afwijkingswaarde betekent dat het verval meer exponentieel verloopt en treedt op als aangestraalde deeltjes onafhankelijk van elkaar deactiveren; een meer negatieve afwijkingswaarde betekent een grotere verbondenheid tussen de deeltjes (coherentie).

Energetische domeingrootte-Late straling

Tenslotte is de late stralingscomponent beoordeeld. Deze wordt bepaald aan de hand van de verhouding intensiteit 100-200s /intensiteit 8-200s . De betekenis van deze parameter houdt verband met de waarneming, dat de duur van de energieopslag correspondeert met de grootte van het domein waarin de energie aanwezig is alvorens als licht te worden uitgestraald (Mae-Wan Ho, 1997). Hoe groter deze waarde is, des te groter zijn de domeinen.

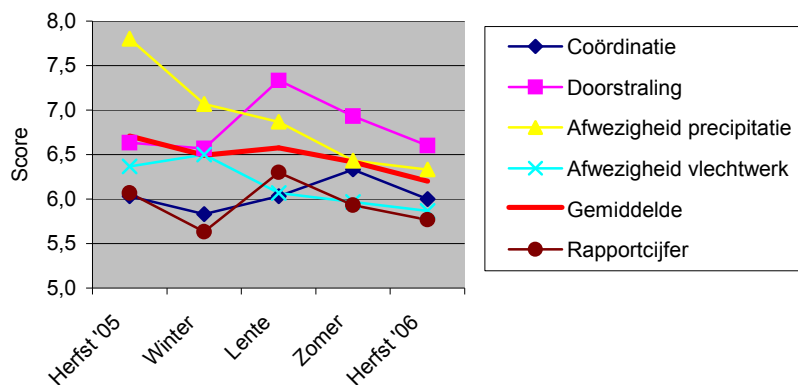
2 Resultaten

2.1 Kristallisaties

Ieder kwartaal zijn van de melk van 15 bedrijven kristallisatiebeelden gemaakt. Deze zijn visueel beoordeeld op de vier kenmerken: Coördinatie, Doorstraling, Afwezigheid van Precipitaties en Afwezigheid van Vlechtwerk en daarnaast is een Rapportcijfer gegeven. Bij de analyse van de resultaten is gekeken naar de aanwezigheid van een seizoenstrend en de variatie tussen- en binnen bedrijven. Met behulp van lineaire regressie ($p < 0,05$) is onderzocht of er een verband is met één of meerdere van de bedrijfs- en gezondheidsgegevens.

Seizoenstrend

In figuur 2 is voor ieder seizoen de gemiddelde score van de kenmerken en het Rapportcijfer weergegeven. De score voor de kenmerken Afwezigheid van Vlechtwerk en Coördinatie verschilt weinig per seizoen. Het kenmerk Afwezigheid van Precipitaties krijgt een steeds lagere score, naarmate het jaar vordert. Doorstraling en het Rapportcijfer hebben een gelijk verloop, zij het op verschillende niveaus, met een piek in de lente³. Voor het kenmerk Afwezigheid van Precipitaties zijn de waarden in de herfst '05 significant verschillend van de andere seizoenen behalve de winter. Bij Doorstraling is de lente significant verschillend van de andere seizoenen (zie tabel 1).



Figuur 2. Gemiddelde score voor de kenmerken, het Rapportcijfer en het gemiddelde van de vier kenmerken, per seizoen.

Tabel 1. Gemiddelde waarde voor de kristallisatie parameters per seizoen met significantie

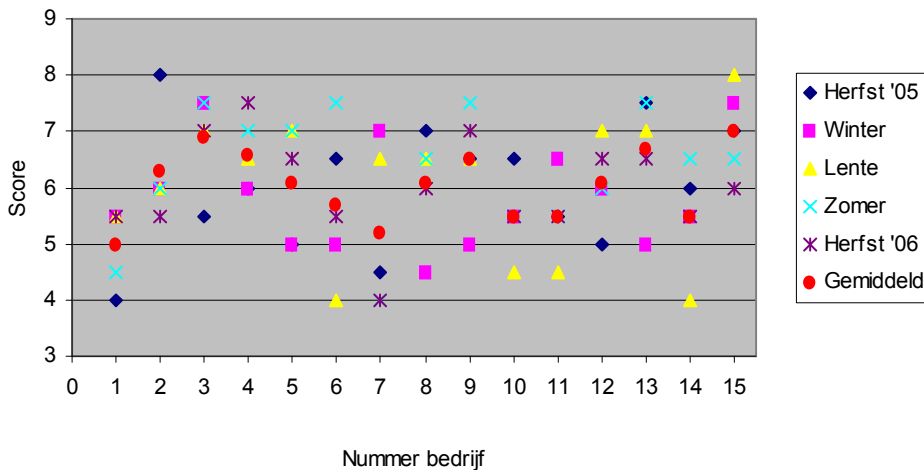
	Herfst'05	Winter	Lente	Zomer	Herfst'06	s.e.d.	F.pr.
Coördinatie	6,03	5,83	6,03	6,33	6,00	0,35	0,715
Doorstraling	6,63 ^b	6,57 ^b	7,33 ^a	6,93 ^b	6,60 ^b	0,23	0,007
Afwezigheid Precipitaties	7,80 ^a	7,07	6,87 ^b	6,43 ^b	6,33 ^b	0,40	0,004
Afwezigheid Vlechtwerk	6,37	6,50	6,07	5,97	5,87	0,36	0,359
Rapportcijfer	6,06	5,63	6,30	5,93	5,77	0,32	0,259

Verschillende superscript in letters betekent een significant verschil tussen de seizoenen.

³ Op basis van de berekende correlaties is er geen verband gevonden tussen het Rapportcijfer en de vier kenmerken.

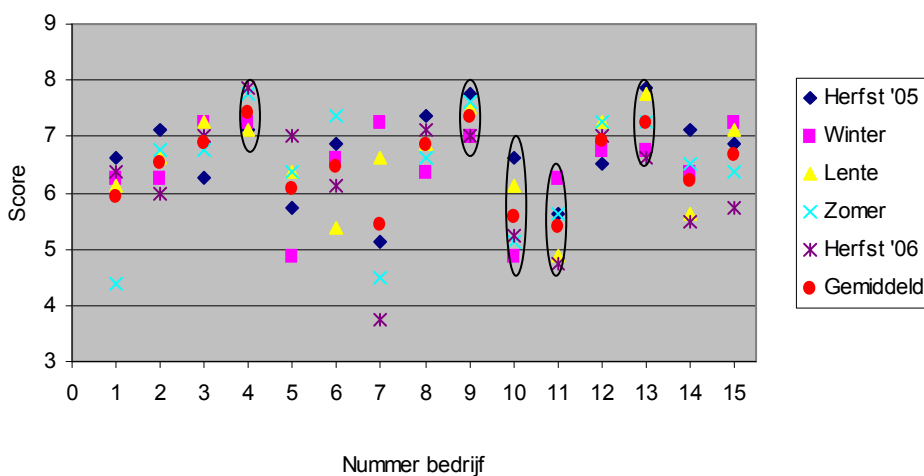
Bedrijfsverschillen

Hoe groot zijn nu de verschillen tussen de bedrijven en ook binnen een bedrijf? In figuur 3 zijn als voorbeeld de scores per bedrijf voor het kenmerk Coördinatie weergegeven (voor de andere kenmerken, zie bijlage 2). Dit kenmerk had geen duidelijke seizoenseffect, maar er zijn wel verschillen tussen de bedrijven, waarbij het gemiddelde voor de bedrijven varieert tussen de 5 en de 7. Het grootste verschil binnen een bedrijf wordt gezien op bedrijf 6 met een score van 4 in de herfst'06 en een score van 7,5 in de winter. Dit soort grote verschillen, waarbij het bedrijf de éne keer een van de laagste scores heeft en vervolgens één van de hoogste komt op meerdere bedrijven voor en verklaart ook waarom de uiteindelijke verschillen voor het gemiddelde van de seizoenen, niet erg groot zijn (figuur 2).



Figuur 3. Score kenmerk Coördinatie per bedrijf.

Ook voor de andere kenmerken zien we verschillen tussen bedrijven en met name ook binnen bedrijven. In figuur 4 is per bedrijf voor ieder seizoen, het gemiddelde van de score voor de vier kenmerken weergegeven. Van alle bedrijven scoren de bedrijven 4, 9 en 13 hoog en de bedrijven 10 en 11 laag. Opvallend is ook de zeer constante score op bedrijf 12. Echter gekeken naar de individuele kenmerken is ditzelfde beeld vooral te zien bij de kenmerken Afwezigheid van Precipitaties en van Vlechtwerk, maar niet voor de kenmerken Coördinatie en Doorstraling.



Figuur 4. Gemiddelde score van de kenmerken Coördinatie, Doorstraling, Afwezigheid van Precipitaties en Afwezigheid van Vlechtwerk.

Bedrijfs- en gezondheidsgegevens

Met behulp van lineaire regressie ($p < 0.05$) is gekeken naar een mogelijk verband tussen de diverse bedrijfs- en gezondheidsgegevens en de kristallisatiescores. De gegevens zijn verzameld in mei '06, in de periode rondom de lentemeting. De gezondheidsgegevens waren niet voor elk seizoen beschikbaar. Deze zijn grotendeels gebaseerd op schattingen van de veehouder over de gehele periode van de herfst '05 tot en met de lente '06. Deze gegevens zijn vervolgens gekoppeld aan de resultaten van alle afzonderlijke metingen. Het bedrijf is als vaste factor meegenomen.

Voor de kenmerken Coördinatie en Doorstraling zijn geen verklarende modellen gevonden op basis van de gebruikte data. De variantie in het Rapportcijfer wordt voor ca. 40% verklaard door het "bedrijf" en de overige variatie is onverklaard (zie bijlage 4). Het meest optimale model voor de Afwezigheid van Vlechtwerk, heeft een verklaarde variantie van 39,9% met als verklarende factoren "bedrijf" en "vet". Voor de Afwezigheid van Precipitaties is een model gevonden met een verklaarde variantie van 53,9% en de verklarende factoren zijn daarbij "bedrijf", "vet" en "krachtvoer". Hierbij kan voor beide kenmerken 80-90% van de verklaarde variantie toe worden geschreven aan het "bedrijf", wat betekent dat het uiteindelijke effect van de overige factoren zeer klein is en mogelijk op toeval gebaseerd.

Het is aannemelijk dat de gezondheidsgegevens een goede weergave zijn van de situatie op het moment dat de gegevens verzameld zijn, in de lente, en dat deze minder representatief zijn voor de situatie in de andere seizoenen. Dit kan deels verklaren, dat er geen directe relatie tussen de kristallisatiescore en de gezondheidsgegevens gevonden is.

Voor de meting in de lente is dan ook apart nog een keer naar de aanwezigheid van correlaties ($r > 0,7$) gekeken. Echter ook dit heeft geen duidelijke relaties opgeleverd, mede ook doordat de hoeveelheid data dan beperkt is. De gevonden relaties lijken veelal op toeval gebaseerd.

Conclusie:

- Er is een seizoenseffect voor het kenmerk Afwezigheid van Precipitaties. Echter een effect van het meetmoment lijkt hier waarschijnlijk door het grote verschil tussen de herfst '05 en de herfst '06.
- Er is een seizoenseffect voor het kenmerk Doorstraling
- De scores voor de kenmerken varieert tussen- en ook binnen bedrijven
- Er is echter geen duidelijke relatie gevonden tussen de kristallisatiekenmerken en de bedrijfs- en gezondheidsgegevens

2.2 Biofotonen

Zoals beschreven in paragraaf 1.4 worden de volgende parameters gemeten bij de biofotonen analyse; de intensiteit van de straling (delayed luminicentie), de mate van coherentie (hyperboliciteit) en de energetische domeingrootte. Ook hier is net als bij de kristallisaties gekeken naar de aanwezigheid van een seizoenseffect, de verschillen tussen en binnen bedrijven en het bestaan van een mogelijk verband met de bedrijfs- en/of gezondheidsgegevens.

Seizoenstrend

In tabel 2 is voor de parameters het gemiddelde per seizoen weergegeven en daarbij de mate van significantie. De gemiddelde intensiteit is berekend voor vier verschillende trajecten en er zijn significante seizoenseffecten voor alle parameters, behalve voor het intensiteitstraject 100-200s.

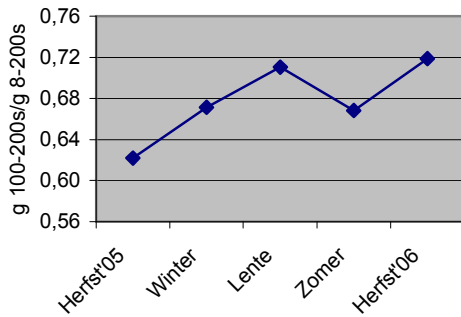
Tabel 2 Gemiddelde waarde voor de biofotonen parameters per seizoen met significantie

	Herfst'05	Winter	Lente	Zomer	Herfst'06	s.e.d.	F.pr.
Energetische domeingrootte	0,62 ^c	0,67 ^b	0,71 ^a	0,67 ^b	0,72 ^a	0,01	<0,001
Afwijking van hyperbool	n.g.	-0,63 ^a	-1,72 ^a	-12,66 ^b	-15,74 ^c	1,71	<0,001
Intensiteit							
3-5s	266,1 ^b	216,6 ^c	213,6 ^c	378,3 ^a	291,6 ^b	14,05	<0,001
8-50s	910,1 ^a	831,8 ^{ab}	802,3 ^b	927,3 ^a	743,2 ^b	48,80	0,002
100-200s	301,9	300,3	315,9	322,8	291,9	14,20	0,198
8-200s	488,1 ^a	448,5	445,3	485,2 ^a	407,6 ^b	23,83	0,008

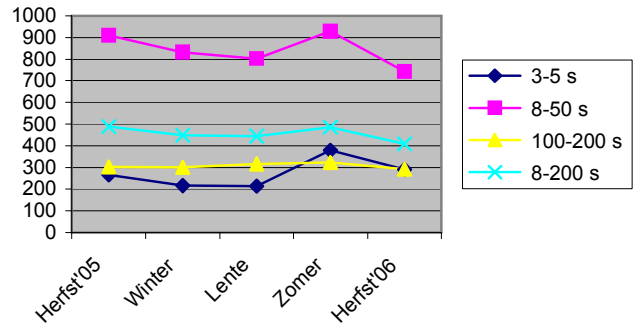
Verskillende superscript in letters betekent een significant verschil tussen de seizoenen. n.g.= niet gemeten, bij de eerste meting is een andere meetmethode gehanteerd, waarbij de hyperbool, niet bepaald kon worden.

De Afwijking van de hyperbool heeft een duidelijke verandering door het jaar. Vanaf de winter tot en met de herfst '06, wordt de Afwijking van de hyperbool steeds negatiever. Een meer negatieve waarde betekent een grotere verbondenheid tussen deeltjes. Dit betekent dat de onderlinge samenhang (coherentie) in de zomer- en herfstmelk groter is dan in de winter- en lentemelk.

In figuur 5 is het verloop van de energetische domeingrootte weergegeven. Deze heeft een piek in de lente, een daling in de zomer en daarna weer een stijging in de herfst '06. Dit laatste is opvallend, omdat de waarde voor herfst'05 juist laag ligt. Mogelijk is hier dan ook sprake van een meetmoment-effect. Des te groter de waarde voor de energetische domeingrootte, des te groter zijn de domeinen. Dit betekent dat domeinen het grootst zijn in de lente en de herfst '06 en het laagst in de herfst van 2005. Dit verloop is tegengesteld aan dat van de intensiteit, omdat de domeingrootte het resultaat is van de deling van de gemiddelde intensiteit voor 100-200s door die van het traject 8-200s. De parameter 100-200s heeft geen seizoenseffect, daardoor wordt de domeingrootte vooral bepaald door de intensiteit in het totale traject van 8-200s. Behalve dus voor 100-200s hebben de andere intensiteitstrajecten een duidelijk seizoensverloop. In figuur 6 is te zien dat de intensiteit in de overige trajecten daalt in de winter en de lente en een piek heeft in de zomer om vervolgens in de herfst '06 weer te dalen.



Figuur 5. Energetische domeingrootte



Figuur 6. Intensiteitstrajecten

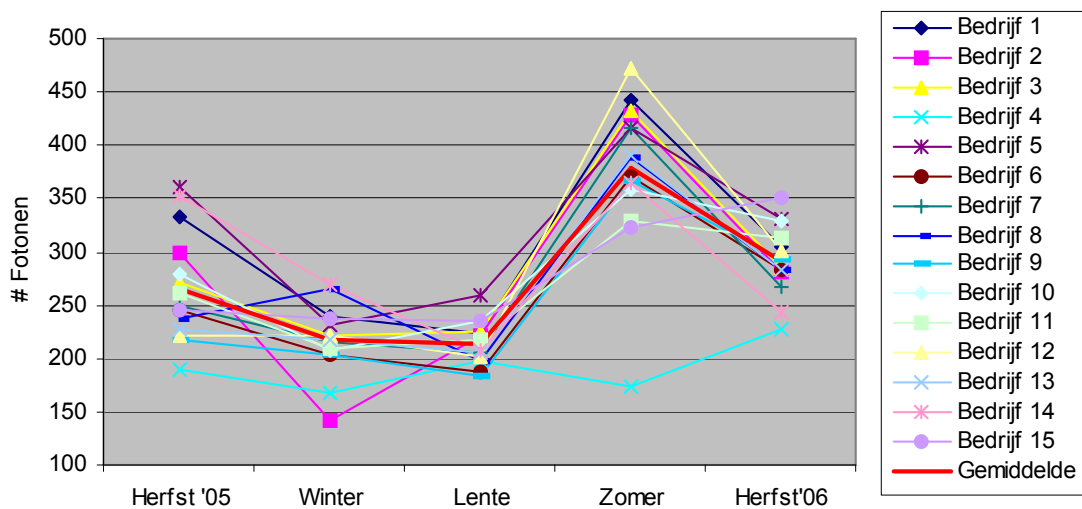
In tabel 3 zijn de resultaten nog eens samengevat, maar nu in termen van hoog/laag en groot/klein. Het blijft onduidelijk hoe de resultaten voor de verschillende parameters met elkaar samenhangen en hoe deze geïnterpreteerd moeten worden.

Tabel 3. Overzicht resultaten parameters

Seizoen	Coherentie (samenhang)	Domeingrootte	Intensiteit
Herfst '05		Kleinst	Hoog
Winter	Laag	Klein	Laag
Lente	Laag	Groot	Laag
Zomer	Hoog	Klein	Hoog
Herfst '06	Hoog	Groot	Laag

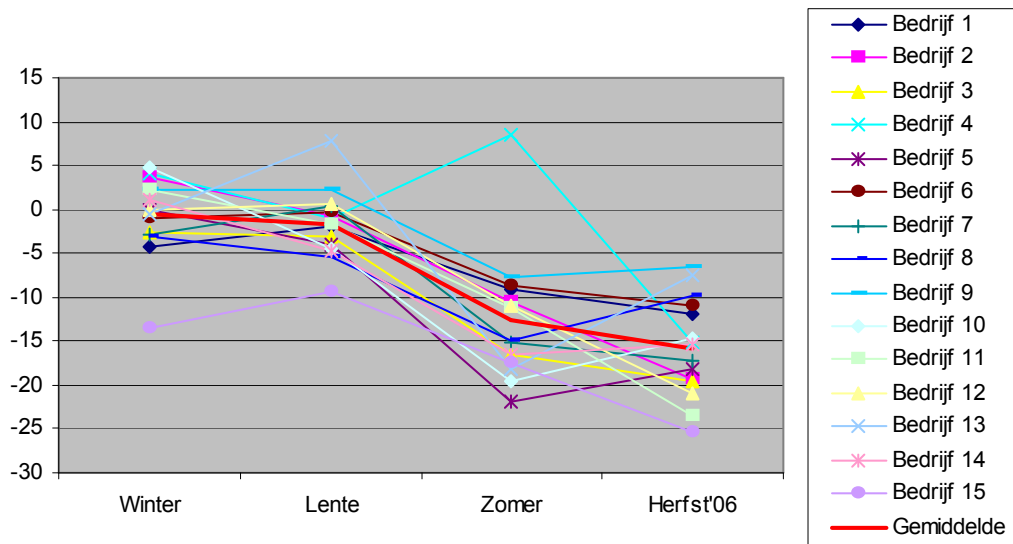
Bedrijfsverschillen

In figuur 7 (zie volgende pagina) staan de resultaten van alle bedrijven voor de gemiddelde intensiteit 3-5 s over het jaar. Op de meeste bedrijven is de seizoenstrend duidelijk waarneembaar. Bedrijf 4 valt op door de afwijkende waarde in de zomer, maar ook heeft dit bedrijf over het geheel gezien een lager aantal fotonen. Het intensiteitstraject 8-50s en 8-200s geven een soort gelijk verloop (zie bijlage 3, let op de schaalverdeling) met ook de afwijkingen in bedrijf 4. Andere bedrijven met afwijkende waardes, zij in het in minder mate, zijn de bedrijven 8, 10 en 15.



Figuur 7. Intensiteit 3-5 seconden

Binnen één seizoen zijn er verschillen tussen de bedrijven voor de gemiddelde intensiteit 3-5s en dit betekent dat er verschil is in de hoeveelheid licht, die in de melk kan worden opgeslagen, per bedrijf. Deze spreiding verschilt per seizoen. In de herfst'05, is deze bijvoorbeeld groot en in de lente is deze klein. Dit betekent dat er ook variatie is binnen het bedrijf. De spreiding (uitgedrukt in standaard deviatie) voor het intensiteitstraject 8-200s is het grootst in bedrijven 2 en 12 en het kleinst in bedrijven 6 en 13. Voor het intensiteitstraject 3-5s hebben ook bedrijf 2 en 12 de grootste spreiding, maar de kleinste spreiding is gemeten op de bedrijven 4, 11 en 15 (zie bijlage 3, intensiteit per bedrijf). Van alle bedrijven is het alleen bedrijf 5, die in alle seizoenen een hoge waarde heeft.



Figuur 8. Afwijking van de hyperbool

De energetische domeingrootte is een afspiegeling van de combinatie van het traject 100-200s en 8-200s. Hier in is te zien (zie bijlage 3) dat bedrijf 4 een groot deel van het jaar een hoge energetische domeingrootte heeft, wat het gevolg is van het lage aantal fotonen in het gehele traject 8-200s.

De resultaten van de afwijking van de hyperbool staan in figuur 8. Ook hier zijn bedrijfsverschillen te zien en is er variatie binnen het bedrijf. Een drietal bedrijven heeft een opvallende afwijking in een enkel seizoen, namelijk bedrijf 4 in de zomer, bedrijf 13 in de lente en bedrijf 15 is overal laag, maar vooral in de winter.

Bedrijfs- en gezondheidsgegevens

Net als voor de kristallisatiekenmerken is ook met behulp van lineaire regressie gekeken naar mogelijke verbanden tussen de resultaten van de biofotonenanalyse en de bedrijfs- en gezondheidsgegevens. Wanneer bedrijf als vaste factor wordt meegenomen verklaart het meest optimale model voor het intensiteitstraject 3-5s een variatie van 47,4% met als significante factoren "vet", "lactose" en "olie" (zie tabel 4 en bijlage 5). De gehalten in de melk, worden deels beïnvloed door de olie en wanneer deze factor wordt weggelaten, daalt de verklaarde variantie naar 43%. De factor bedrijf heeft geen significant effect, maar wanneer deze wordt weggelaten is de verklaarde variantie 31,3% (incl. factor olie).

Voor de Afwijking van de hyperbool is het beste model opgebouwd uit "vet", "lactose", "ureum" en "krachtvoer" en dit heeft een verklaarde variantie 57,5%. Ook hier is het zo dat het model bestaat uit inhoudsstoffen, die deels gerelateerd zijn aan de krachtvoergif. Wanneer krachtvoer wordt weggelaten uit het model, dan is de

verklaarde variantie 51,3% en neemt de waarde voor de schatter van vet toe tot 4,46 en die van lactose daalt naar 24,3. Ook hier heeft de factor "bedrijf" geen significante bijdrage aan het model en als deze niet wordt meegenomen is de verklaarde variantie 44,7% (met krachtvoer).

De richting van de schatters voor vet en lactose zijn voor de Afwijking van de hyperbool positief en voor het intensiteittraject 3-5s negatief, zie tabel 4. Dit betekent dat bij een toename van de hoeveelheid vet en/of lactose de melk meer energie kwanten kan opslaan en dat de mate van samenhang van de melk toeneemt.

Tabel 4. Resultaten regressie-analyse

Intensiteit 3-5s		Afwijking van Hyperbool	
Factor	Effect op # fotonen	Factor	Effect op Hyperbool
Vet	-149,8 per procent	Vet	2,91 per procent
Lactose	-467,6 per procent	Lactose	27,4 per procent
Olie	-333 per kg product	Ureum	-0,477 per mg per 100 ml
		Krachtvoer	2,79 per kg ds

Intensiteit 3-5s (verklaarde variantie is 47,4%) en Afwijking van de hyperbool (verklaarde variantie 57,5%) met bedrijf als vaste factor

Vooraf vet en ureum zijn seizoensgebonden factoren, die sterk bepaald worden door de overgang van stal naar weidegang. In de zomerperiode is het vet lager en het ureumgehalte hoger, wat overeenkomt met een hogere intensiteit en meer samenhang (meer negatieve waarde hyperbool) in de zomermelk. Dit lijkt dus deels een verklaring te zijn voor de seizoenseffecten en ook de verschillen tussen de bedrijven. Bedrijf 4 onderscheidt zich van de andere bedrijven doordat het een zeer constant lactosegehalte heeft, mogelijk dat dit (deels) een verklaring is voor de afwijkende waarden op dit bedrijf. Voor de overige biofotonen parameters is er geen verklarend model gevonden.

Samenvattend heeft de biofotonenanalyse geresulteerd in het inzicht dat:

- De intensiteit (delayed luminescentie) het meest duidelijke fluctueert door het seizoen
- Dat deze fluctuatie per bedrijf kan verschillen
- Een deel van de variantie voor het Intensiteittraject 3-5s en de Afwijking van de hyperbool verklaard kan worden door de factoren "vet", "lactose" en "ureum" en waarbij de factor "bedrijf" geen significante bijdrage heeft
- De effecten van de factoren "vet" en "ureum" overeenkomen met de verschillen in vet- en ureumgehalte tussen de zomer en de winter (zomer: vet laag, ureum hoog)

Als laatste stap is nog gekeken naar mogelijke correlaties tussen de parameters van beide methodes (kristallisatie en biofotonen), maar deze zijn niet gevonden.

3 *Discussie*

Voor beide methodes geldt dat de hoeveelheid gezondheidsgegevens en de betrouwbaarheid hiervan beperkt is. Pas gedurende de looptijd van het project is besloten om gezondheid mee te nemen als variabele. Hierdoor zijn de gegevens op één bepaald moment, halverwege het project gevraagd, waarbij veelal op basis van de schatting van de veehouders. Beter was het geweest als de veehouder een registratie had bijgehouden en bij iedere meting de data beschikbaar waren geweest. Echter in een ander kleinschalig intern onderzoek naar de effecten van gezondheid op het kristallisatiebeeld van de melk van individuele koeien, zijn ook geen relaties gevonden met de scores voor de kenmerken. Er is daarnaast ook gekeken naar het effect van het mengen van de melk van individuele koeien op het kristallisatiebeeld. Daarbij werd duidelijk dat de score voor het kristallisatiebeeld van het mengmonster niet overeen komt met het gemiddelde van de score van alle individuele koeien. Dit betekent dat informatie verloren gaat bij het mengen van melk en dit kan de reden zijn dat in dit onderzoek geen relaties zijn gevonden met bedrijfs- en/of gezondheidsgegevens.

Voor de biofotonenmethode is er een indicatie dat de factoren vet, lactose en ureum een rol spelen bij het verloop van de uitstraling van de fotonen. Sturen op een hoger ureum gehalte is niet gunstig vanuit het oogpunt van gezondheid van de koeien, economische verliezen door een verlies van eiwit en milieubelasting. De mogelijkheden om op het vetgehalte te sturen met bijbehorende voor- en nadelen zijn sterk afhankelijk van de bedrijfssituatie. Over het beïnvloeden van het lactose gehalte is nog veel onduidelijkheid.

4 Conclusie

Het onderzoek was gericht op een verkenning van de mogelijkheden voor een bredere (kwaliteits)profilering van de biologische zuivel. Hier is invulling aangegeven door te onderzoeken of de biofotonen- en voedingskristallisatie-analyses een bijdrage kunnen leveren aan de profilering van biologische zuivel als een breed kwaliteitsconcept van biologische melk. Onderzoeksvragen hierbij waren of er bedrijfs- en seizoensverschillen zijn en met welke bedrijfskenmerken de potentieel vernieuwende analyses verband houden, zodat hierop gestuurd kan worden.

De analysemethode waarbij gebruikt gemaakt is van het maken van kristallisatiebeelden van melk heeft laten zien dat:

- Er een seizoenseffect is voor het kenmerk Afwezigheid van Precipitaties. Echter een effect van het meetmoment lijkt hier waarschijnlijk door het grote verschil tussen de herfst '05 en de herfst '06
- Er een seizoenseffect is voor het kenmerk Doorstraling
- De scores voor de kenmerken varieert tussen- en ook binnen bedrijven
- Er echter geen duidelijke relatie is gevonden tussen de kristallisatiekenmerken en de bedrijfs- en gezondheidsgegevens

Samenvattend heeft de biofotonen-analyse geresulteerd in het inzicht dat:

- De intensiteit (delayed luminescentie) het meest duidelijke fluctueert door het seizoen
- Dat deze fluctuatie per bedrijf kan verschillen
- Een deel van de variantie voor het Intensiteitstraject 3-5s en de Afwijking van de hyperbool verklaard kan worden door de factoren "vet", "lactose" en "ureum" en waarbij de factor "bedrijf" geen significante bijdrage heeft
- De effecten van de factoren "vet" en "ureum" overeenkomen met de verschillen in vet- en ureumgehalte tussen de zomer en de winter (zomer: vet laag, ureum hoog)

Daarnaast is onderzocht of de resultaten van de biofotonen-analyse correleren met een van de kenmerken van kristallisatie, maar dit leverde geen nieuwe inzichten op.

Bij beide methoden lijkt er een verschil te zijn tussen bedrijven. Voor enkele kristallisatiekenmerken is de factor "bedrijf" significant, echter met een groot deel onverklaarde variatie. Voor de biofotonenmethode is "bedrijf" niet significant, maar is er met name variatie binnen het bedrijf met duidelijke seizoenseffecten. Voor de kristallisatiemethode zijn geen verklarende factoren gevonden die van invloed zijn op de vormkracht van melk. Daarmee blijft onduidelijk hoe gestuurd kan worden op de productie van melk met een hoog gewaardeerd kristallisatiebeeld. Met het laatste inzicht dat het mengen van melk niet een goed gemiddelde geeft van de beelden van melk van individuele koeien, lijkt de kristallisatie analyse (nog) niet geschikt om ingezet te worden voor een verbreding van het kwaliteitsconcept van biologische tankmelk. Het toepassen van de methode op de melk van individuele dieren kan mogelijk wel meer inzicht geven in de factoren die van invloed zijn op het kristallisatiebeeld.

De voedingskristallisatie methode is ook toegepast bij een onderzoek waarbij biologische winkelmelk vergeleken werd met gangbare melk. Hier werd wel een significant verschil gevonden tussen biologisch en gangbaar (Slaghuis & De Wit, 2007)⁴.

De biofotonen methode is ook toegepast in het onderzoek naar verschillen tussen biologische en gangbare winkelmelk (Slaghuis & De Wit, 2007). Hierin werden ook significante verschillen gevonden voor seizoen, waarbij ook in de zomer intensiteitswaarden hoger waren dan in de winter en de lente, maar er werd geen significant verschil gevonden tussen biologisch en gangbaar.

De biofotonen methode heeft in dit onderzoek laten zien dat de capaciteit van de melk om energie-kwanten op te slaan en vast te houden deels samenhangt met het vet, lactose en ureum gehalte van het product. Het blijft echter onduidelijk hoe de resultaten voor de verschillende parameters met elkaar samenhangen en hoe deze geïnterpreteerd moeten worden. Het is daarom belangrijk om hier meer duidelijkheid over te krijgen.

Voor zowel de kristallisatie- als de biofotonen methode geldt dat op dit moment, op basis van de resultaten uit dit onderzoek, beide methodes niet in te zetten zijn voor een verbreding van het kwaliteitconcept voor biologische tankmelk.

⁴ Bij de vergelijking tussen biologische en gangbare kaas was er geen significant verschil

Literatuur

Busscher, N., Kahl, J., Mergardt, G., Kretschmer, S., Meier-Ploeger, A., Huber, M., Doesburg, P., Weerd, A. de, Andersen, J.O., Paulsen, M. (2006). **Validation and standardization of the biocrystallization method: development of a complementary test to assess qualitative features of agricultural and food products.** Triangle Report Nr. 1, University of Kassel, Louis Bolk Instituut and Biodynamic Research Association Denmark.

Mae-Wan Ho (1997). Towards a theory of the organism. *Integrative Physiological and Behavioral Science* 32, nr. 4 343-363.

Martinez, L.A., Martinez, V.G., Klopotek, B.B., Lanj, J., Neuner, A., Braun, A.M., Oliveros, E. (2000). Nonradiative and radiative deactivation of singlet molecular oxygen ($O_2^1\Delta_g$) in micelaar media and microemulsions, *Journal of Photochemistry and Photobiology* 58 (2-3) 94-107.

Slaghuis, B., Wit, J. de (2007). **Productkwaliteit Zuivel: verschil tussen biologisch en gangbaar**, Animal Science Group & Louis Bolk Instituut. 14 p.

De Vries, A. & J. de Wit (2006). **Rantsoen en melkvetzuren; Verschillen in melkkwaliteit tussen biologische bedrijven in beeld gebracht.** Louis Bolk Instituut, Driebergen. 34 p.

Bijlage 1: Lijst met bedrijfs- en gezondheidsgegevens

Bedrijf		
Algemeen	Eko Sinds	jaartal
	Aantal koeien	aantal
	Dagproductie	kilogram
	Jaarproductie	kilogram
Melkgehaltenes	CLA	miligram per gram vet
	Omega-3	miligram per gram vet
	Omega-6	miligram per gram vet
	Vet	percentage
	Eiwit	percentage
	Lactose	percentage
	Ureum	mg/g melk
Lactatiestadium	<120 dagen	aantal koeien
	120 tot 305 dagen	aantal koeien
	>305 dagen	aantal koeien
Voer	Weidegang	uren per dag
	Krachtvoer*	kilo per koe per dag
	Olie	kilo per koe per dag
Ras	HF	percentage
	RHF	percentage
	FH	percentage
	RFH	percentage
	MRIJ	percentage
	Blaarkoppen	percentage
	Jersey	percentage
	Mont Beliarde	percentage
	Brown Suisse	percentage
Gezondheid		
	Licht in de stal	beoordeling 1-10
	Belang welzijn	beoordeling 1-10
	Koeienboer	beoordeling 1-10
	Jaargezondheid*	beoordeling 1-10
	Gemiddelde Leeftijd	jaar
	Tussenkalftijd	dagen
	Kalveren bij de koe	ja/nee
	Som gezondheidsproblemen**	som van percentages
	Homeopathie	ja/nee

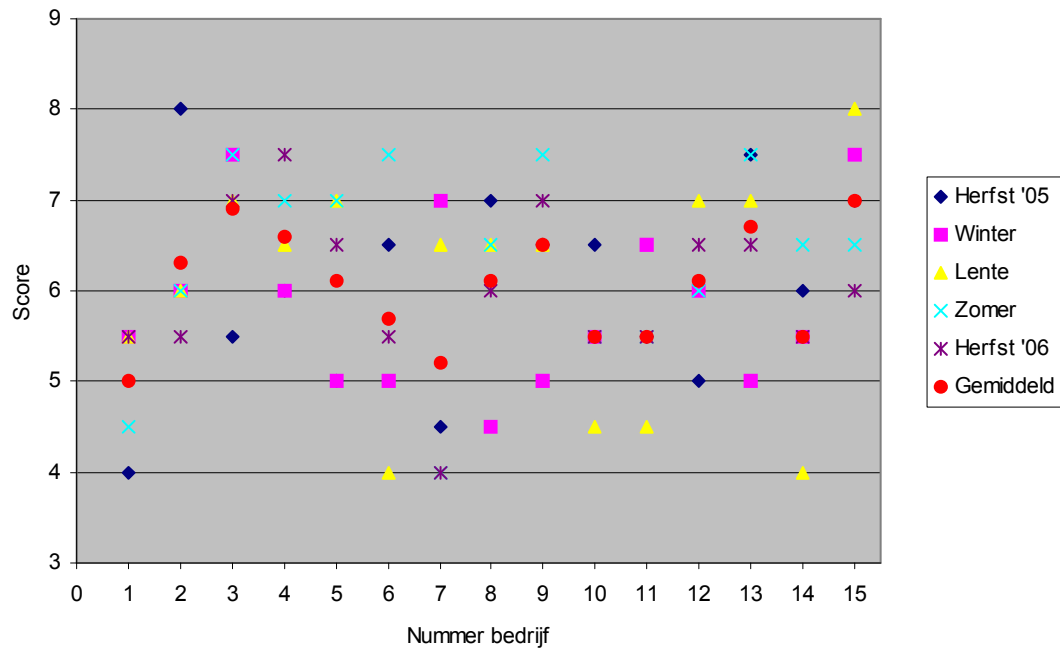
* Schatting van de veehouder

** De optelsom van de schatting van de veehouder van het percentage dieren met: kreupelheid, mastitis, nageboortenproblemen, stofwisselingsproblemen, melkziekte en parasietproblemen.

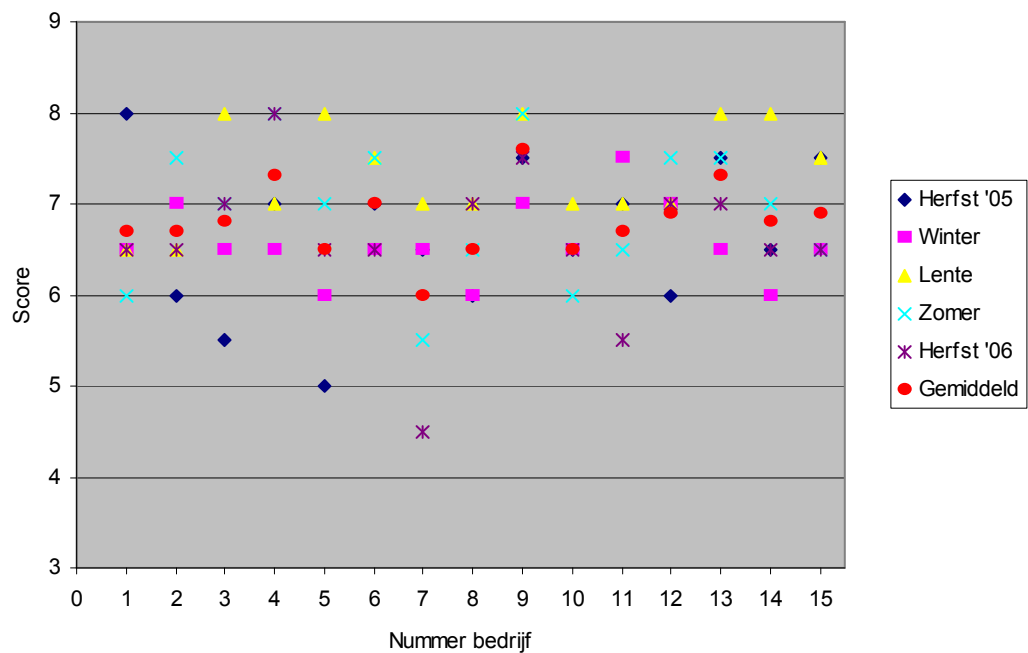
Bijlage 2: Resultaten Kristallisatiemeting

Scores voor de kenmerken Coördinatie, Doorstraling, Afwezigheid van Precipitaties en -vlechtwerk en het Rapportcijfer voor alle bedrijven per seizoen en het gemiddelde van de 4 kenmerken.

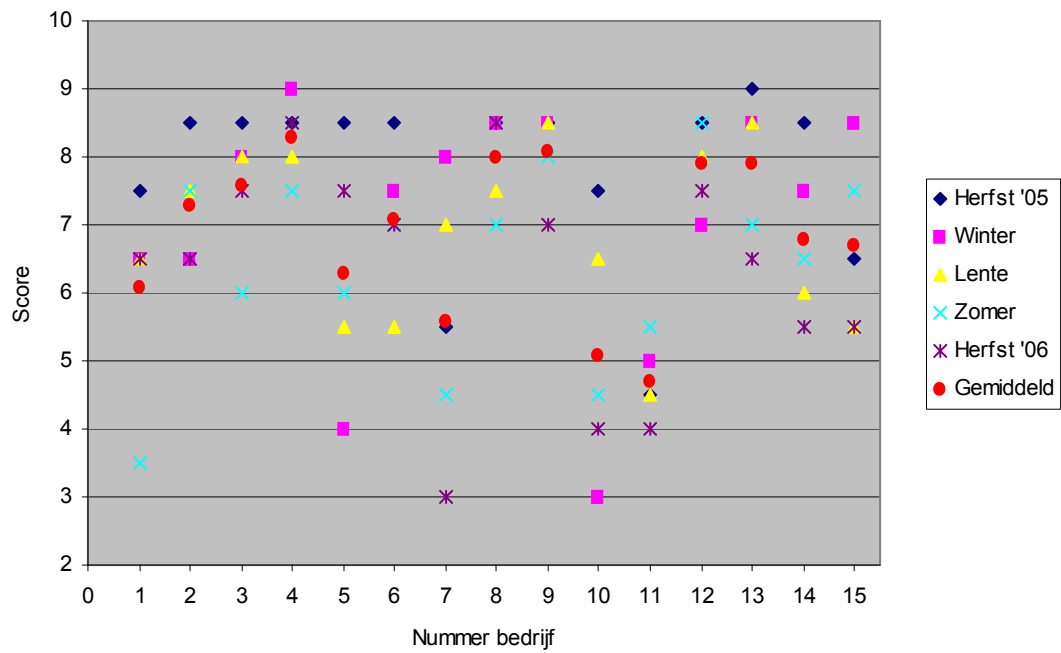
Coördinatie



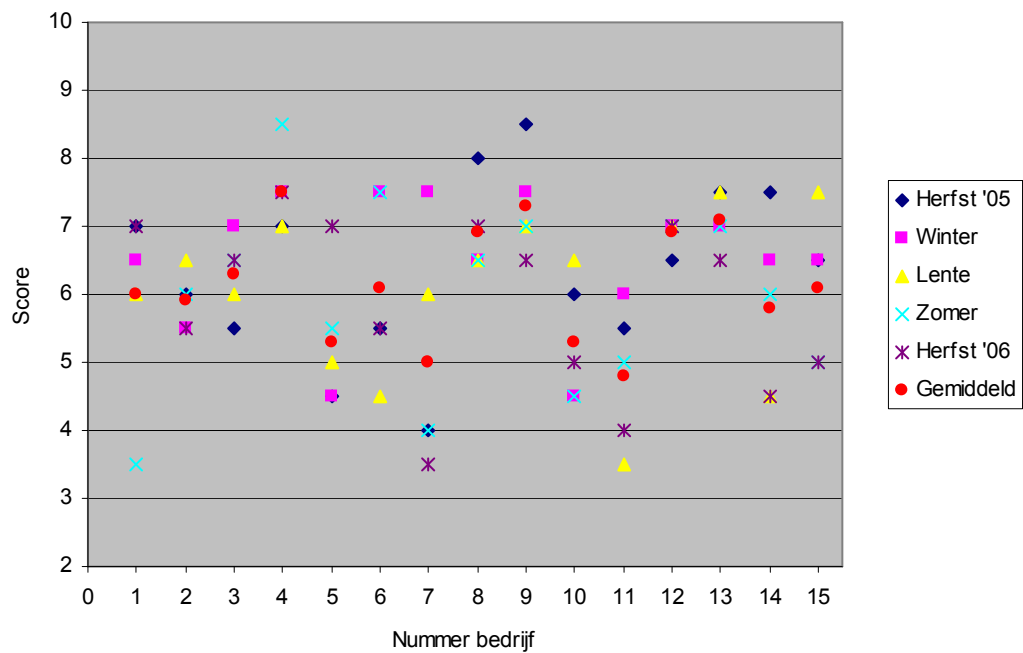
Doorstraling



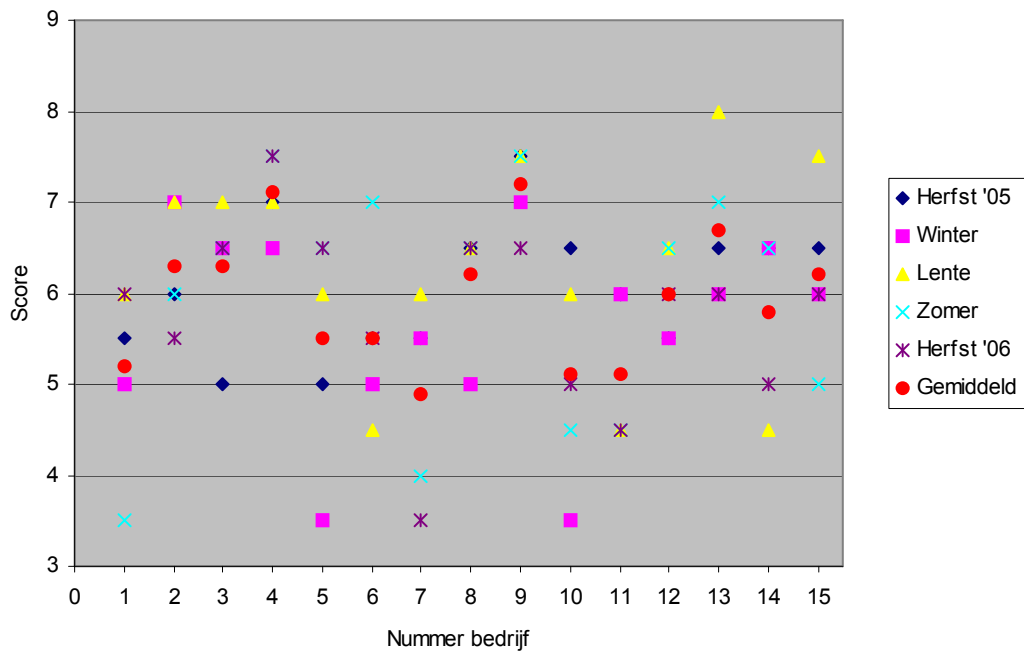
Afwezigheid van Precipitaties



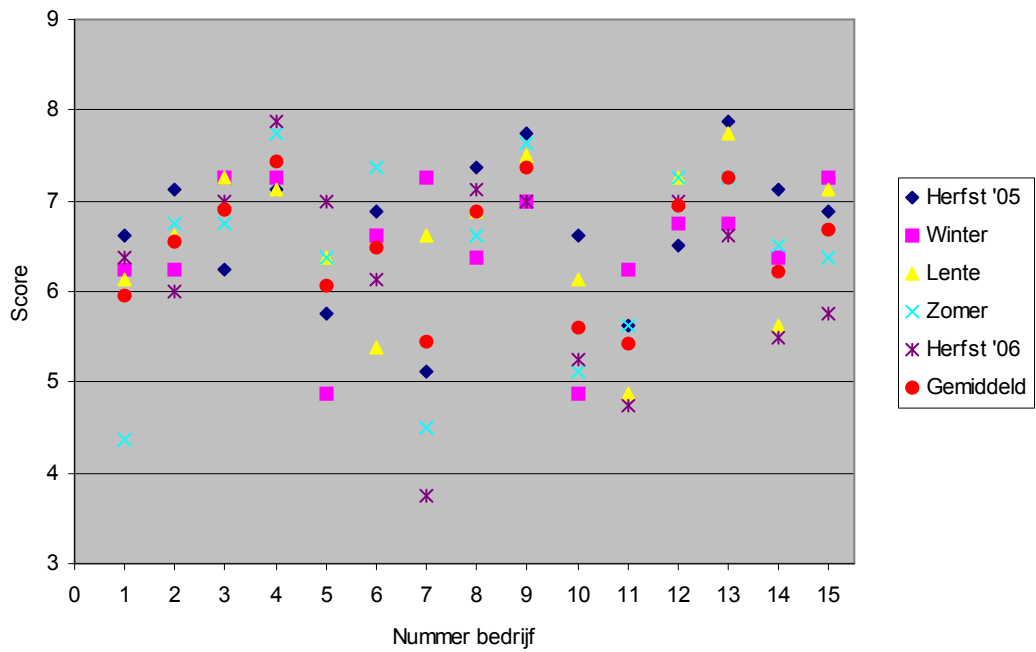
Afwezigheid van Vlechtwerk



Rapportcijfer

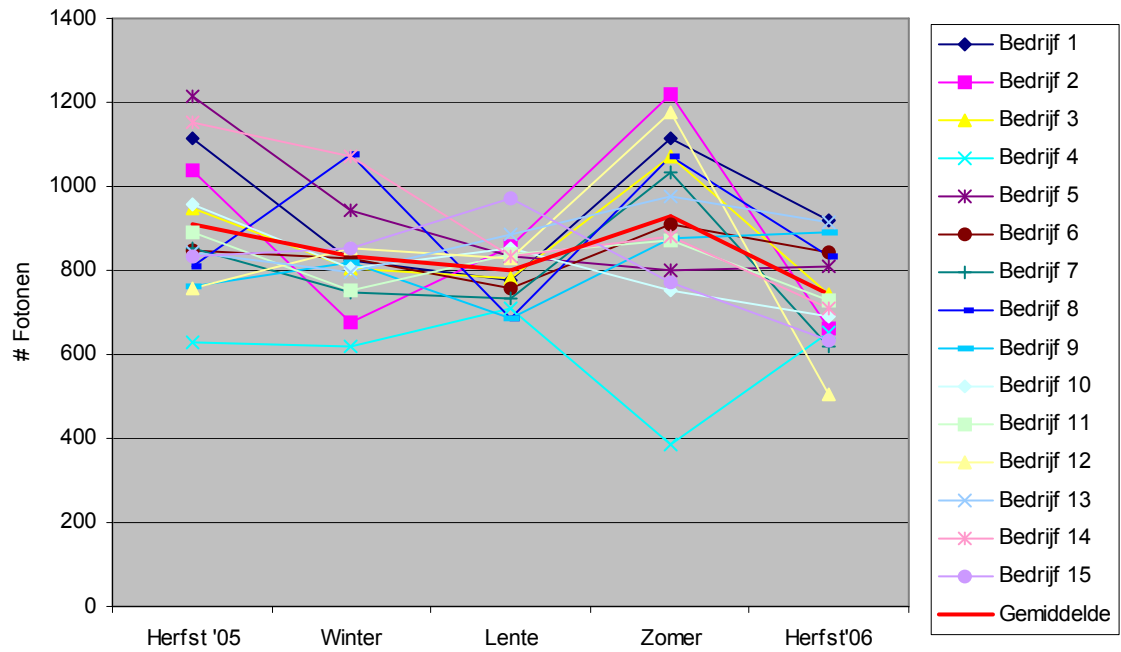


Gemiddelde

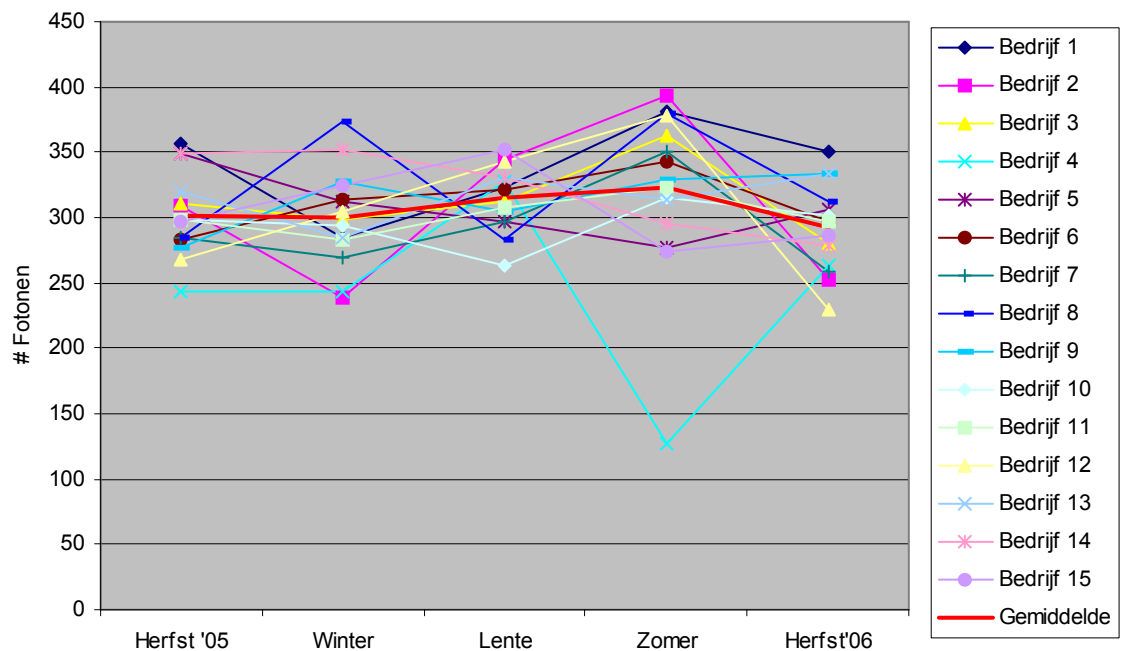


Bijlage 3: Resultaten Biofotonenmeting

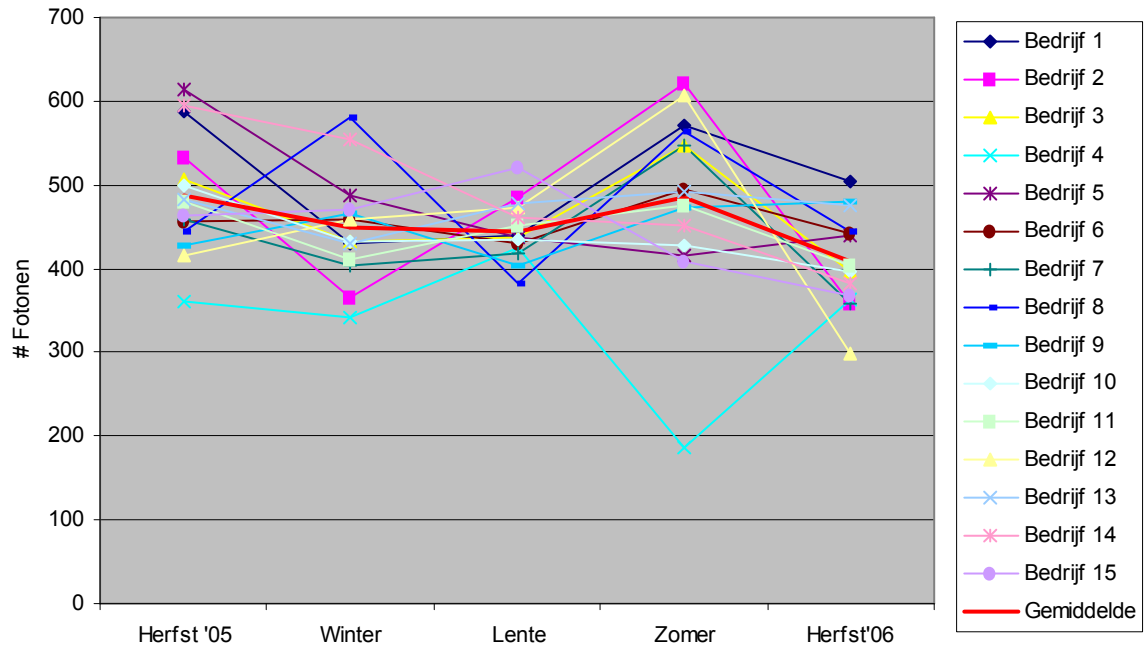
Intensiteit 8-50s per seizoen



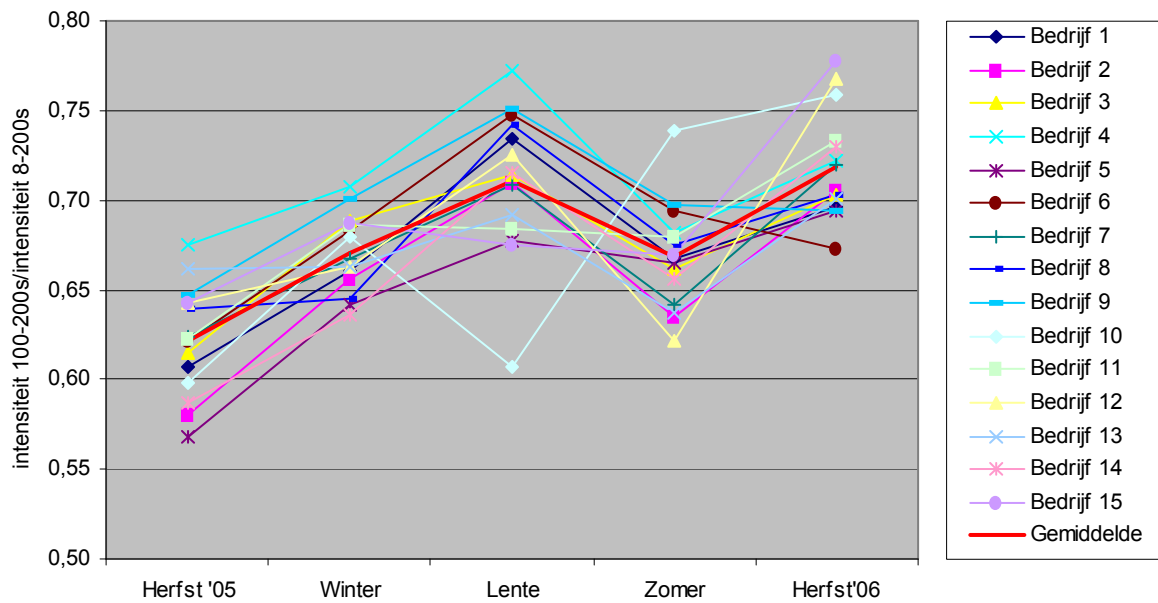
Intensiteit 100-200s per seizoen



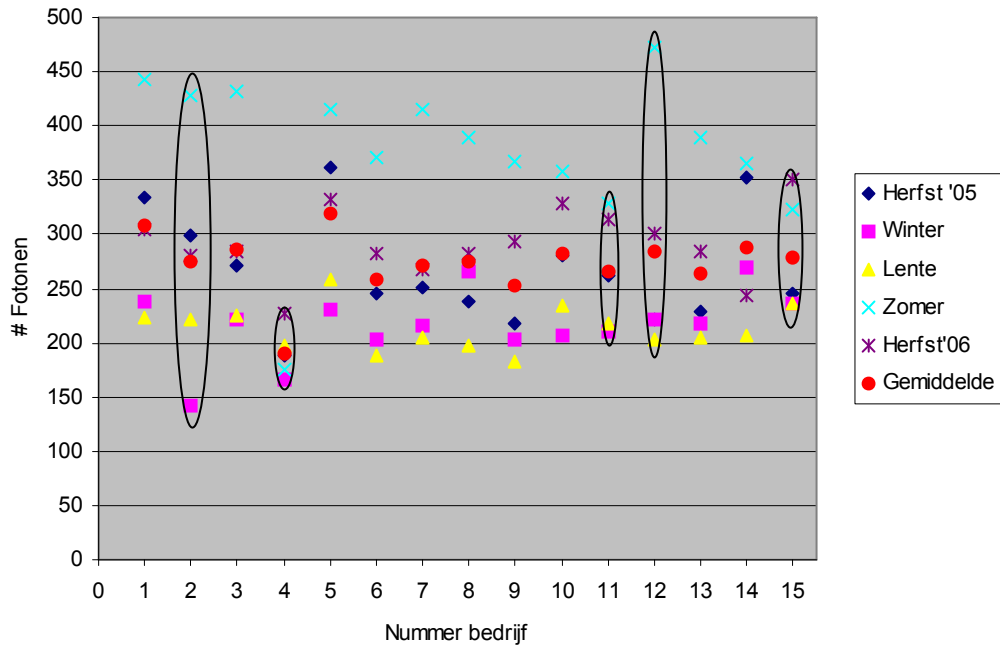
Intensiteit 8-200s per seizoen



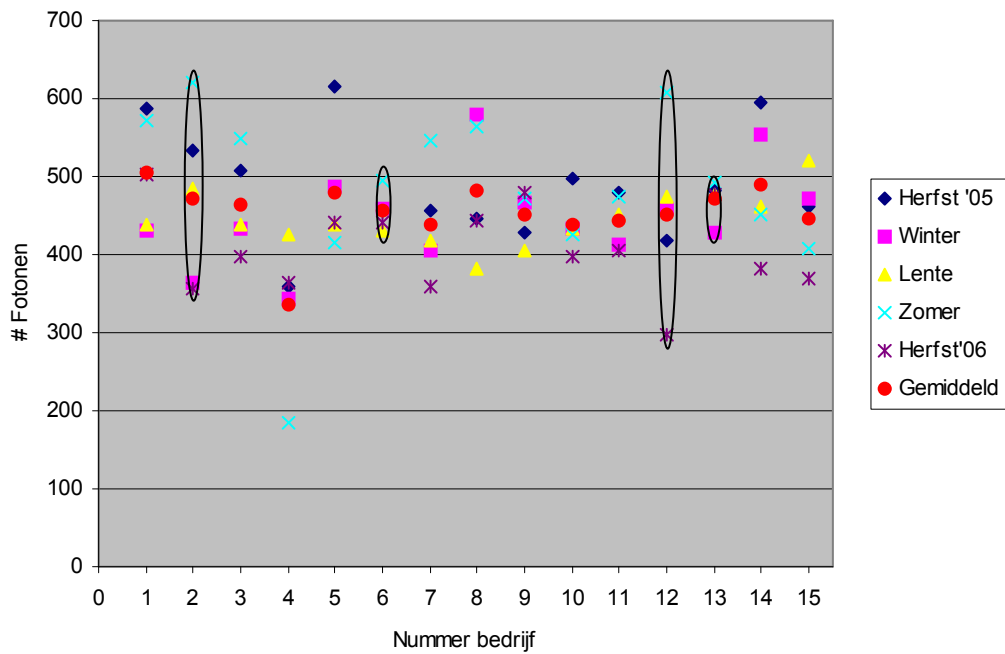
Energetische domeingrootte per seizoen



Intensiteit 3-5s per bedrijf



Intensiteit 8-200s per bedrijf



Bijlage 4: Resultaten Regressieanalyse Kristallisatie

Response variate: **Afwezigheid van Precipitaties**
 Fitted terms: Constant + Bedrijf + Vet + Krachtvoer

Summary of analysis

Source	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
Regression	16	113.65	7.103	6.40	<.001
Residual	58	64.35	1.109		
Total	74	178.00	2.405		

Percentage variance accounted for 53.9
 Standard error of observations is estimated to be 1.05.

Message: the following units have large standardized residuals.

Unit	Response	Residual
72	3.00	-2.46

Estimates of parameters

Parameter	estimate	s.e.	t(58)	t pr.
Constant	1.28	2.26	0.57	0.573
Bedrijf 2	0.799	0.672	1.19	0.239
Bedrijf 3	1.261	0.668	1.89	0.064
Bedrijf 4	-0.004	0.939	0.00	0.996
Bedrijf 5	1.573	0.756	2.08	0.042
Bedrijf 6	-0.572	0.772	-0.74	0.462
Bedrijf 7	-1.096	0.681	-1.61	0.113
Bedrijf 8	1.521	0.686	2.22	0.031
Bedrijf 9	-2.41	1.22	-1.97	0.053
Bedrijf 10	-1.039	0.670	-1.55	0.126
Bedrijf 11	-0.844	0.680	-1.24	0.220
Bedrijf 12	0.869	0.729	1.19	0.238
Bedrijf 13	0.391	0.744	0.53	0.601
Bedrijf 14	-0.606	0.798	-0.76	0.451
Bedrijf 15	0.536	0.667	0.80	0.424
Vet	1.583	0.493	3.21	0.002
Krachtvoer	-0.552	0.169	-3.26	0.002

Parameters for factors are differences compared with the reference level:

Factor	Reference level
Bedrijf	1

Accumulated analysis of variance

Change	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
+ Bedrijf	14	90.600	6.471	5.83	<.001
+ Vet	1	11.242	11.242	10.13	0.002
+ Krachtvoer	1	11.813	11.813	10.65	0.002
Residual	58	64.345	1.109		
Total	74	178.000	2.405		

Response variate: **Afwezigheid van Vlechtwerk**
 Fitted terms: Constant + Bedrijf + Vet

Summary of analysis

Source	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
Regression	15	56.80	3.7869	4.28	<.001
Residual	59	52.18	0.8845		
Total	74	108.99	1.4728		

Percentage variance accounted for 39.9
 Standard error of observations is estimated to be 0.940.

Message: the following units have large standardized residuals.

Unit	Response	Residual
27	7.500	2.53
54	3.500	-2.75
56	7.500	2.44

Message: the error variance does not appear to be constant; large responses are less variable than small responses.

Estimates of parameters

Parameter	estimate	s.e.	t(59)	t pr.
Constant	0.73	1.95	0.37	0.711
Bedrijf 2	-0.232	0.597	-0.39	0.699
Bedrijf 3	0.222	0.595	0.37	0.711
Bedrijf 4	-0.138	0.838	-0.16	0.870
Bedrijf 5	-0.519	0.598	-0.87	0.389
Bedrijf 6	-0.176	0.603	-0.29	0.771
Bedrijf 7	-1.134	0.597	-1.90	0.062
Bedrijf 8	1.008	0.596	1.69	0.096
Bedrijf 9	-0.98	1.01	-0.96	0.339
Bedrijf 10	-0.837	0.597	-1.40	0.166
Bedrijf 11	-0.877	0.606	-1.45	0.153
Bedrijf 12	0.927	0.595	1.56	0.125
Bedrijf 13	0.775	0.606	1.28	0.206
Bedrijf 14	-0.105	0.596	-0.18	0.861
Bedrijf 15	0.115	0.595	0.19	0.848
Vet	1.222	0.440	2.78	0.007

Parameters for factors are differences compared with the reference level:

Factor	Reference level
Bedrijf	1

Accumulated analysis of variance

Change	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
+ Bedrijf	14	49.9867	3.5705	4.04	<.001
+ Vet	1	6.8170	6.8170	7.71	0.007
Residual	59	52.1830	0.8845		
Total	74	108.9867	1.4728		

Response variate: **Rapportcijfer**
 Fitted terms: Constant, Bedrijf

Summary of analysis

Source	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
Regression	14	36.78	2.6271	3.45	<.001
Residual	60	45.70	0.7617		
Total	74	82.48	1.1146		

Percentage variance accounted for 31.7
 Standard error of observations is estimated to be 0.873.

Message: the following units have large standardized residuals.

Unit	Response	Residual
18	3.500	-2.56

Message: the error variance does not appear to be constant; large responses are less variable than small responses.

Estimates of parameters

Parameter	estimate	s.e.	t(60)	t pr.
Constant	5.200	0.390	13.32	<.001
Bedrijf 2	.100	0.552	1.99	0.051
Bedrijf 3	1.100	0.552	1.99	0.051
Bedrijf 4	1.900	0.552	3.44	0.001
Bedrijf 5	0.300	0.552	0.54	0.589
Bedrijf 6	0.300	0.552	0.54	0.589
Bedrijf 7	-0.300	0.552	-0.54	0.589
Bedrijf 8	1.000	0.552	1.81	0.075
Bedrijf 9	2.000	0.552	3.62	<.001
Bedrijf 10	-0.100	0.552	-0.18	0.857
Bedrijf 11	-0.100	0.552	-0.18	0.857
Bedrijf 12	0.800	0.552	1.45	0.152
Bedrijf 13	1.500	0.552	2.72	0.009
Bedrijf 14	0.600	0.552	1.09	0.281
Bedrijf 15	1.000	0.552	1.81	0.075

Parameters for factors are differences compared with the reference level:

Factor	Reference level
Bedrijf	1

Accumulated analysis of variance

Change	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
+ Bedrijf	14	36.7800	2.6271	3.45	<.001
Residual	60	45.7000	0.7617		
Total	74	82.4800	1.1146		

Bijlage 5: Resultaten Regressieanalyse Biofotonen

Response variate: **Intensiteit 3-5s**

Fitted terms: Constant + Bedrijf + Vet + Lactose + Olie

Summary of analysis

Source	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
Regression	17	246065.	14474.	4.93	<.001
Residual	57	167507.	2939.		
Total	74	413572.	5589.		

Percentage variance accounted for 47.4

Standard error of observations is estimated to be 54.2.

Message: the following units have large standardized residuals.

Unit	Response	Residual
52	472.2	3.35
59	365.3	2.72

Message: the residuals do not appear to be random; for example, fitted values in the range 237.4 to 270.5 are consistently larger than observed values and fitted values in the range 92.7 to 176.5 are consistently smaller than observed values.

Estimates of parameters

Parameter	estimate	s.e.	t(57)	t pr.
Constant	3064.	483.	6.34	<.001
Bedrijf 2	-7.4	35.2	-0.21	0.835
Bedrijf 3	38.0	39.9	0.95	0.346
Bedrijf 4	66.9	49.0	1.37	0.178
Bedrijf 5	-8.4	37.1	-0.23	0.821
Bedrijf 6	-22.5	34.8	-0.65	0.520
Bedrijf 7	-54.9	35.0	-1.57	0.122
Bedrijf 8	-56.2	44.5	-1.26	0.212
Bedrijf 9	160.3	59.0	2.72	0.009
Bedrijf 10	-14.3	41.5	-0.34	0.732
Bedrijf 11	-100.4	35.5	-2.83	0.006
Bedrijf 12	5.0	38.7	0.13	0.899
Bedrijf 13	-11.8	35.0	-0.34	0.737
Bedrijf 14	-100.4	37.3	-2.69	0.009
Bedrijf 15	-75.5	35.5	2.13	0.038
Vet	-149.8	26.6	-5.62	<.001
Lactose	-467.6	97.6	-4.79	<.001
Olie	-333.	138.	-2.42	0.019

Parameters for factors are differences compared with the reference level:

Factor Reference level Bedrijf 1

Accumulated analysis of variance

Change	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
+ Bedrijf	14	57867.	4133.	1.41	0.180
+ Vet	1	81184.	81184.	27.63	<.001
+ Lactose	1	89819.	89819.	30.56	<.001
+ Olie	1	17195.	17195.	5.85	0.019
Residual	57	167507.	2939.		
Total	74	413572.	5589.		

Response variate: **Afwijking Hyperbool**
 Fitted terms: Constant + Bedrijf + Vet + Lactose + Ureum + Krachtvoer

Summary of analysis

Source	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
Regression	18	3033.	168.50	5.44	<.001
Residual	41	1270.	30.97		
Total	59	4303.	72.93		

Percentage variance accounted for 57.5
 Standard error of observations is estimated to be 5.57.

Message: the following units have large standardized residuals.

Unit	Response	Residual
34	-5.44	-2.35
55	8.49	2.45

Estimates of parameters

Parameter	estimate	s.e.	t(41)	t pr.
Constant	-143.1	78.6	-1.82	0.076
Bedrijf 2	0.66	4.01	0.17	0.869
Bedrijf 3	-0.91	3.99	-0.23	0.820
Bedrijf 4	6.80	6.58	1.03	0.307
Bedrijf 5	-11.68	5.13	-2.28	0.028
Bedrijf 6	8.01	4.64	1.73	0.092
Bedrijf 7	2.97	4.14	0.72	0.478
Bedrijf 8	10.47	4.28	2.45	0.019
Bedrijf 9	15.93	8.68	1.83	0.074
Bedrijf 10	3.60	4.14	0.87	0.389
Bedrijf 11	1.04	4.19	0.25	0.806
Bedrijf 12	8.22	4.37	1.88	0.067
Bedrijf 13	13.46	4.76	2.83	0.007
Bedrijf 14	9.58	5.30	1.81	0.078
Bedrijf 15	-5.86	4.08	-1.44	0.159
Vet	2.91	3.75	0.78	0.442
Lactose	27.4	15.1	1.82	0.076
Ureum	-0.477	0.122	-3.92	<.001
Krachtvoer	2.79	1.04	2.68	0.011

Parameters for factors are differences compared with the reference level:
 Factor Reference level Bedrijf 1

Accumulated analysis of variance

Change	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
+ Bedrijf	14	757.55	54.11	1.75	0.083
+ Vet	1	568.02	568.02	18.34	<.001
+ Lactose	1	1028.82	1028.82	33.22	<.001
+ Ureum	1	456.50	456.50	14.74	<.001
+ Krachtvoer	1	222.12	222.12	7.17	0.011
Residual	41	1269.77	30.97		
Total	59	4302.78	72.93		