

Afd. Koolhydraat- en Vetchemie 1985-01-15
RAPPORT 85.7 Pr.nr. 505.4000
Onderwerp: Voedingsvezel

Tabellen: 5
Bijlage : 1
Voorgaand verslag: 82.20.

Verzendlijst: directeur, sektorhoofden, direktie VKA, afd. KVC (4x),
Projektleider (Muuse), Projektbeheer, circulatie,
medewerkers, afd. Toxicologie, afd. Algemene Chemie, LH-
Vakgroep Voeding (dr M. Katan).

Projekt: Ontwikkeling en verbetering analysemethoden voor akkerbouw-
produkten

Onderwerp: Voedingsvezel

Tabellen: 5

Bijlage : 1

Voorgaand verslag: 82.20

Doel:

Het verkrijgen van een bepalingsmethode voor totaal voedingsvezel-
gehalte in voedingsmiddelen.

Samenvatting:

Onderzocht is of de AOAC methode voor ons in de praktijk geschikt is.
Tevens zijn de met deze methode gevonden gehalten vergeleken met de
ruwe celstof gehalten en is voedingsvezel berekend via een 100%-andere
stoffen dan vezel analyse in enige praktijkmonsters. De in deze
methode gebruikte filtratie (handmethode) is vergeleken met de Fiber-
tec E (automatisch).

Conclusie:

De AOAC methode is voor ons hoewel zeer bewerkelijk geschikt om totaal
voedingsvezel te bepalen. Deze methode is weergegeven in een intern
analysevoorschrift.

Totaal voedingsvezel is niet zonder meer te vergelijken met ruwe
celstof en kan niet berekend worden via een 100%-andere stoffen dan
vezel analyse.

De Fibertec E zal de filtratie vergemakkelijken en verkorten en de
nauwkeurigheid van de bepaling ten goede komen.

Verantwoordelijk: drs B.G. Muuse

Medewerker/Samensteller: M.L. Essers

Projektleider: drs B.G. Muuse

Inhoud

	<u>Blz.</u>
I Inleiding	1
II Onderzoek	1
III Resultaten	2
IV Bespreking resultaten	2
V Conclusie	3
VI Literatuur	4

I Inleiding

De definitie, het voorkomen van voedingsvezel in levensmiddelen en de analysemogelijkheden staan beschreven in verslag 82.20.

Om zowel de onoplosbare als oplosbare vezelstoffen (totaal voedingsvezel) te bepalen zijn de methoden van Schweizer en Southgate genoemd. De nadelen van deze methoden zijn echter de lange tijdsduur en de hoge arbeidsintensiviteit.

Een minder arbeidsintensieve methode is ontwikkeld door Asp (1). De bepaling van totaal voedingsvezel wordt met behulp van enzymen en gravimetrie uitgevoerd. Volgens dit principe is door de AOAC een methode opgesteld (gebaseerd op methoden van Asp, De Vries, Englyst, Furda, Schweizer, Southgate, Theander en Van Soest) en getest. Daar deze methode makkelijker uitvoerbaar is dan methode Schweizer en Southgate en totaal voedingsvezel ermee wordt bepaald, is in dit onderzoek bekeken of deze methode voor ons bruikbaar is. Hiervoor hebben wij van de Landbouwhogeschool de monsters ontvangen die door de AOAC getest zijn.

Het principe van de methode is als volgt:

Het vetvrije droge materiaal wordt gejelatineerd met termamyl (hittebestendig α -amylase) gevolgd door enzymatische afbraak met protease en amyloglucosidase (AGS) van resp. eiwit en zetmeel.

De oplosbare voedingsvezel wordt neergeslagen met 76% ethanol en met de overige vezels gefiltreerd, gewassen, gedroogd en gewogen. In duplikaat analyses wordt het eiwit en asgehalte bepaald in het residu. Het voedingsvezelgehalte is het gewicht van het residu minus het eiwit- en asgewicht hierin.

II Onderzoek

De bepaling van totaal voedingsvezel is uitgevoerd volgens RIKILT methode (Bijlage 1) gebaseerd op een AOAC methode ontwerp. Naar aanleiding van de resultaten en opmerkingen van de AOAC ringtest zijn de volgende wijzigingen doorgevoerd:

- Incubatietijd Termamyl 30 min i.p.v. 15 min.
- Incubatietijd Protease 60 min i.p.v. 30 min.
- Incubatietijd AGS 60 min i.p.v. 30 min.
- AGS van BDH i.p.v. Sigma.

Alvorens over te gaan op de analyses van de ringtestmonsters zijn eerst enkele proefmonsters geanalyseerd en vergeleken met de Southgate methode.

Daarna is de bepaling uitgevoerd op de ringtestmonsters.

Tevens zijn enige praktijkmonsters onderzocht op totaal voedingsvezelgehalte en vergeleken met ruwe celstof en is het gehalte aan totaal voedingsvezel berekend via een 100%-andere stoffen dan vezel analyse. Verder is vergeleken of de nauwkeurigheid en afzuigtijd niet verbeterd c.q. verkort konden worden door voor het afzuigen van de vezel gebruik te maken van de afzuigmodule van Tecator (Fibertec E).

III Resultaten

De resultaten van de proefmonsters, tarwezemelen, wittebrood, bruinbrood en volkorenbrood staan vermeld in tabel 1. De met de AOAC methode gevonden waarden dienen vergeleken te worden met die van Southgate x 0,9. Er bleek een goede overeenstemming te zijn.

De totaal voedingsvezelgehalten gevonden in de ringtestmonsters en vergeleken met de AOAC resultaten staan vermeld in tabel 2. Tevens is de invloed van de blanco op het voedingsvezelgehalte onderzocht. De resultaten staan vermeld in tabel 3.

De totaal voedingsvezelgehalten van enige praktijkmonsters vergeleken met ruwe celstof en berekening voedingsvezelgehalte via 100%-niet vezelstoffen staan vermeld in tabel 4.

Twee monsters zijn door ons en Tecator te Zweden (m.b.v. Fibertec E) onderzocht. De resultaten staan vermeld in tabel 5.

IV Bespreking van de resultaten

De totaal voedingsvezelgehalten van de door ons onderzochte ringtestmonsters komen redelijk overeen met de gehalten van de AOAC ringtest. Twee uitzonderingen zijn de monsters rice en soy isolate. In het monster rice vinden wij een lager gehalte. Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door vollediger verwijdering van het aanwezige zetmeel (incubatietijd Termamyl 30 i.p.v. 15 min). In het monster soy isolate is door ons een iets hoger gehalte gevonden dan bij de ringtest (na correctie, zie tabel 2). De methode is dus voor ons bruikbaar. Van deze methode is een intern analysevoorschrift opgesteld (zie Bijlage 1).

De blanco waarden geven een grote spreiding te zien vooral bij het asgehalte. Gezien deze spreiding zal de blanco chemicaliën steeds uitgevoerd dienen te worden.

De resultaten van enige praktijkmonsters vergeleken met ruwe celstof geven duidelijk te zien dat het totaal voedingsvezelgehalte hoger is dan het ruwe celstofgehalte. Bij zemelen (4/4/1084 en 4/4/1957) is het gehalte aan totaal voedingsvezel zelfs $\pm 4,5$ x groter dan het ruwe celstofgehalte. De twee methoden zijn dus niet te vergelijken.

De totaal voedingsvezelgehalten van de praktijkmonsters vergeleken met de berekende gehalten via een 100%-andere stoffen dan vezel, komen bij de helft van de monsters goed overeen, rekening houdende met een mogelijke relatieve spreiding tot 30% bij de bepaling van totaal voedingsvezel in monsters met een gehalte kleiner dan $\pm 10\%$ (resultaat ringtest AOAC). De monsters waarbij de gehalten niet goed overeenkomen zijn de grondstoffen gebakken en ongebakken brood, vlees en eieren en de pellets van gebakken produkten.

De gehalten gevonden met de handmethode komen goed overeen met die van de Fibertec E. De filtratietijden van de Fibertec E waren in beide gevallen 50 min, bij de handmethode waren deze 30 min bij volkorenbrood en 90-130 min bij het samengestelde diervoeder. Hierbij dient opgemerkt dat bij het diervoeder de filtratie versneld diende te worden door de vezellaag in de kroes te breken met een spatel (filter slaat dicht). Dit probleem is bij de Fibertec E gemakkelijk te verhelpen door druk onder de kroes te brengen waardoor vezel in de kroes iets "gelicht" en de filtratie vergemakkelijkt wordt. Bij gebruik van een Fibertec E zal de filtratietijd dus beduidend korter zijn dan bij de handmethode. Naar aanleiding van de resultaten opgegeven door Tecator kan ook gesteld worden dat met behulp van Fibertec E nauwkeurigere gehalten gevonden kunnen worden.

V Conclusie

De totaal voedingsvezelbepaling is door ons reproduceerbaar uit te voeren en is weergegeven in een intern analysevoorschrift. De bepaling kan niet zonder meer vervangen worden door een ruwe celstofbepaling of door een 100%-andere stoffen dan voedingsvezel analyse.

De bepaling zal gemakkelijker en nauwkeuriger met een Fibertec E uitgevoerd kunnen worden. Kosten ca. f 12.000,-. Momenteel kost de analyse per monster 0,5-1,0 mandag. Met de Fibertec is dit te reduceren met een faktor 3.

VI Literatuur

1. Asp, N.G., e.a. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber, J. Agric. Food Chem. 1983, 31, 476-482.
2. Katan, M.B. en Bovenkamp v.d. P. Analyse van het totale voedingsvezelgehalte en van het pectine-aandeel hierin in Nederlandse voedingsmiddelen. Voeding - 43e Jaargang no. 5, 1982, 153-160.

AFDELING KOOLHYDRAAT- EN VETCHEMIE

INTERN ANALYSEVOORSCHRIFT NR. A. 385

1e oplage (1984-11-30)

VOEDINGSMIDDELEN - BEPALING VAN TOTAAL VOEDINGSVEZEL (TOTAL DIETARY
FIBER)

Verzendlijst: Bibliotheek (5x), sektorchef, afdeling KVC

AFDELING KOOLHYDRAAT- EN VETCHEMIE

INTERN ANALYSEVOORSCHRIFT NR. A. 385

1e oplage (1984-11-30)

VOEDINGSMIDDELEN - BEPALING VAN TOTAAL VOEDINGSVEZEL (TOTAL DIETARY FIBER)

Inleiding

Deze methode is gebaseerd op een ontwerp voorschrift van de AOAC.

1. Toepassingsgebied

De methode is toepasbaar voor allerhande voedingsmiddelen.

2. Definitie

Onder totaal voedingsvezel wordt verstaan zowel de wateroplosbare als onoplosbare voedingsvezel bepaald volgens de beschreven werkwijze.

3. Beginsel

Monsters worden gegelatineerd met Termamyl (een hitte bestendige α -amylase) en enzymatisch afgebroken met protease en amyloglucosidase om de in het monster aanwezige eiwitten en zetmeel te verwijderen.

De oplosbare voedingsvezel wordt neergeslagen met ethanol. Het totale residu wordt geïsoleerd en gewogen. In parallel analyses wordt het eiwit- en asgehalte van de geïsoleerde vezel bepaald. Totaal voedingsvezel is het gewicht van het residu verminderd met de aanwezige eiwitten en as.

4. Reagentia

Indien niet anders vermeld dienen de reagentia van analysekwaliteit te zijn. Gebruik gedestilleerd water of water van tenminste gelijke zuiverheid.

4.1 95% alcohol, technisch.

4.2 71% v/v alcohol.

Breng in een maatkolf van 1 liter 250 ml water en vul aan met 95% alcohol. Meng en vul aan tot volume met 95% alcohol indien nodig.

4.3 Aceton.

4.4 Fosfaatbuffer pH 6,0.

Los op 1,5 gram natriumwaterstoffosfaat (Na_2HPO_4) en 10,0 gram natriumdiwaterstoffosfaat (NaH_2PO_4) in 700 ml water. Verdun tot 1 liter met water en breng op pH 6,0 door druppelsgewijs verdunde Na_2HPO_4 of NaH_2PO_4 toe te voegen indien noodzakelijk.

4.5 Termamyl-oplossing 120 l.

Novo laboratorium. Na gebruik in koelkast bewaren.

4.6 Protease P-5380, Sigma.

4.7 Amyloglucosidase 1000 E/ml 39114, BDH.

4.8 Natriumhydroxide-oplossing 0,285 N.

Los op 11,4 gram natriumhydroxide in ongeveer 700 ml water in een maatkolf van 1 liter. Breng op volume met water.

4.9 Fosforzuur-oplossing 0,329 M.

Weeg af 37,9 gram fosforzuur (85%) in een maatkolf van 1 liter. Breng op volume met water.

4.10 Celite 545 (zuurgewassen).

5. Toestellen, glaswerk, hulpmiddelen

5.1 Analytische balans.

5.2 Glasfilterkroes, poriengrootte 2 (40-90 μ).

5.3 Vacuümpomp en afzuigkolven met terugslagfles.

5.4 Vacuümstoof 70°C en exsiccator.

Als alternatief kan een luchtoven 105°C gebruikt worden.

5.5 Kokend waterbad.

5.6 Schudwaterbad 60°C.

5.7 Roerapparaat (magnetisch).

5.8 Bekerglas 600 ml hoog model.

6. Werkwijze

6.1 Monstervoorbereiding

Voedingsvezel dient bepaald te worden in de droge stof. Homogeniseer het monster en droog het 16 uur bij 70°C in een vacuümstoof en koel af in een exsiccator. Maal het monster (of gedeelte hiervan) over een zeef van 0,3-0,5 mm. Indien het monster meer dan 5% vet bevat dient het monster ontvet te worden. Bij de berekening dient rekening gehouden te worden met deze vetfaktor.

6.2 Bepaling

1. Voer een duplo blanco bepaling uit gelijk met de monsters om de bijdrage van de reagentia van het residu te meten. Meet de pH van de blanco in stap 5 en 8 om te controleren of de juiste pH verkregen wordt. Pas oplossingen 4.8 en 4.9 aan indien noodzakelijk.
2. Weeg af in duplo 1 gram monster, op 0,1 mg nauwkeurig, in een 600 ml bekerglas (hoog model). Voeg toe 50 ml fosfaatbuffer pH 6,0.
3. Voeg toe 100 µl Termamyl-oplossing.
4. Dek het bekerglas af met aluminiumfolie en plaats het in een kokend waterbad gedurende 30 min. Zwenk voorzichtig elke 5 min.
5. Laat afkoelen. Breng op pH 7,5 ± 0,1 door 10 ml 0,285 N NaOH oplossing toe te voegen.
6. Voeg toe 5 mg Protease. Daar Protease aan de spatel blijft hangen is het aan te bevelen een enzymoplossing in water te maken vlak voor gebruik en de benodigde hoeveelheid te pipetteren (b.v. 40 mg enzym in 0,8 cc, voeg toe 0,1 cc).

7. Dek bekerglas af met aluminiumfolie. Incubeer met constante beweging, gedurende 60 min bij 60°C.
8. Laat afkoelen. Voeg toe 10 ml 0,329 g M fosforzuur om de pH op $4,5 \pm 0,2$ te brengen.
9. Voeg toe 0,3 ml Amyloglucosidase-oplossing.
10. Dek bekerglas af met aluminiumfolie. Incubeer met constante beweging, gedurende 60 min bij 60°C.
11. Voeg toe 280 ml 95% alcohol van 60°C.
12. Laat oplossing staan bij kamertemperatuur gedurende 60 min. Bij aanwezigheid van wateroplosbare voedingsvezel zullen deze neerslaan.
13. Weeg af in de glasfilterkroes 0,5 gr celite en droog tot constant gewicht. Verdeel de celite in de kroes met behulp van een stroom 71% alcohol. Zuig alcohol af zodat een gladde mat van celite verkregen wordt. (Dit vergemakkelijkt het verwijderen van de kroesinhoud in stap 18.)
14. Filtreer de oplossing uit stap 12 door het kroesje.
15. Was het residu achtereenvolgens met drie porties 20 ml 71% alcohol, twee porties 10 ml 95% alcohol en twee porties 10 ml aceton. Bij sommige monsters wordt een oppervlaktefilm gevormd die de vloeistof tegenhoudt. Als deze oppervlaktefilm met een spatel gebroken wordt zal de filtratie verbeterd worden. De tijd benodigd voor filtreren en wassen zal variëren van 1 tot 6 uur, met een gemiddelde van $\pm 1 \frac{1}{2}$ uur.
16. Droog het kroesje + residu gedurende een nacht in een 70°C vacuüm oven of een 105°C luchtoven.
17. Laat afkoelen in een exsiccator en weeg kroesje, celite en residu op 0,1 mg nauwkeurig.
18. Analyseer een van de monsters van de duplo op eiwitgehalte. Eiwit kan het gemakkelijkste geanalyseerd worden door de voedingsvezel mat en de celite voorzichtig uit de kroes te schrapen met behulp van een spatel en op een geschikt filtreerpapier te brengen en dicht te vouwen. (Het filtreerpapier dient gecontroleerd te worden op eiwitgehalte.)
19. Veras het tweede monster van de duplo 5 uur bij 525°C.
20. Laat afkoelen in exsiccator. Weeg kroes met celite en as tot op 0,1 mg nauwkeurig.

Opmerkingen

1. Om een betrouwbaarder cijfer te verkrijgen dient het monster in viervoud te worden geanalyseerd zodat een duplo as- en eiwitbepaling uitgevoerd kan worden in het residu.
2. Om er zeker van te zijn dat in de gebruikte enzymen geen ongewenste activiteiten aanwezig zijn dienen deze voor elke nieuwe charge gecontroleerd te worden, echter in ieder geval om de zes maanden (in verband met teruglopende activiteit van de enzymen).

Testmonster	Aktiviteit testen voor	Monster- gewicht	verwachte recovery
Citruspectin	Pectinase	0,1 gram	95-100%
Stractan (larch gum)	Hemicellulase	0,1 gram	95-100%
Wheat starch	Amylase	1,0 gram	0-1%
Corn starch	Amylase	1,0 gram	0-2%
Casein	Protease	0,3 gram	0-2%
B-glucan (oatgum)	B-glucanase	0,1 gram	95-100%

7. Berekening

Bereken het totaal voedingsvezelgehalte met de volgende formule:

$$\% \text{ totaal voedingsvezelgehalte} = \frac{R (1-E-A) - R_0 (1-E_0-A_0)}{m} \times 100$$

waarin:

R = gemiddeld gewicht van de residuen in grammen

E = eiwitgehalte uitgedrukt als decimaal b.v. eiwitgehalte is 5%
E is dan 0,05

A = asgehalte uitgedrukt als decimaal, zie bij E

Index₀ = blanco-analyse

m = gemiddeld gewicht van de analysemonsters in grammen

Verantwoordelijk: drs B.G. Muuse

Medewerker/samensteller: M.L. Essers

Tabel 1 Resultaten proefmonsters

	% totaal voedingsvezel		
	AOAC	Southgate	Southgate x 0,9*
Tarwezemelen	41,8 42,5	44,0	39,6
Wittebrood	2,5	2,7	2,5
Bruinbrood	5,1	5,1	4,6
Volkorenbrood	6,7 6,7 7,0	8,5	7,7

* Zie rapport: Analyse van het totaal voedingsvezelgehalte en van het pectine-aandeel hierin in Nederlandse voedingsmiddelen.

Tabel 2 Resultaten ringtestmonsters AOAC

monster		% totaal voedingsvezel in de droge stof		
		AOAC(1)	St.dev.	RIKILT*
Wheat bran	1-28	89,02	2,63	91,4
Rice	6-28(2)	3,67	2,35	-0,2 0,6
Rye Bread	7-28	5,90	1,45	7,2
Soy Isolate	8-28(3)	7,51 1,38	7,58 0,29	3,1
Whole wheat flour	10-28	12,93	1,43	14,0
White wheat flour	11-28	3,07	1,01	<4,3(4)
Laco-ovo vegetarian mixed diet	13-28	8,59	1,90	11,8

* Monstergemiddelde van vier waarnemingen.

(1) Gemiddelde van 32 laboratoria.

(2) Hoog gemiddelde en variatiecoëfficiënt (64%) zijn afkomstig van niet complete verwijdering van het aanwezig zetmeel. Door ons langer geïncubeerd met Termamyl; geen zetmeel meer aan te tonen.

(3) Hoog gemiddelde (7,51) door foute eiwitbepalingen. Indien waarden > 3% niet meegenomen worden is het gemiddelde 1,38% (zeventien laboratoria vonden tussen 0,12% en 2,78%).

(4) Eiwitbepaling mislukt.

Tabel 3 Resultaten blanco chemicaliën

	mg	S	Variatiecoëfficiënt
Blanco(1)	52,9	10,5	19,9
As in blanco(2)	21,1	8,0	37,8
Eiwit in blanco(3)	17,1	1,5	8,8

(1) Gemiddelde van 54 bepalingen.

(2) Gemiddelde van 27 bepalingen.

(3) Gemiddelde van 26 bepalingen.

De gemiddelde blanco correctie (blanco chemicaliën-eiwit-as) is 14,3 mg
S = 4,7 mg. Variatiecoëfficiënt 33,0.

Tabel 4 Resultaten AOAC methode, ruwe celstof en 100%-andere stoffen dan vezel

gehalten in oorspronkelijk monster.				
RIKILT-nummer	grondstoffen	% voedingsvezel		% ruwe celstof
		berekend ⁽¹⁾	AOAC	
4/4/846	groente, fruit, aardappelen	9,8	10,8	3,4
4/4/1953	groente, fruit, aardappelen	13,8	13,9	4,3
4/4/3757	groente, fruit, aardappelen	11,3	12,5	4,0
4/4/847	gebakken brood, vlees, eieren	7,0	2,7	0,7
4/4/1954	gebakken produkten	2,8	3,4	0,8
4/4/3759	gebakken brood, vlees, eieren	0,2	4,3	0,9
4/4/848	ongebakken brood, vlees, eieren	8,0	4,0	0,6
4/4/1955	rauwe produkten	0,9	2,4	0,6
4/4/3758	ongebakken brood, vlees, eieren	1,6	3,4	0,6
4/4/1084	tarwezemelen	46,5	49,7	10,8
4/4/1957	tarwezemelen	46,3	50,9	11,2
RIKILT-nummer	Pellets	berekend ⁽¹⁾	AOAC	% ruwe celstof
4/4/1676	rauwe produkten	2,6	4,2	0,9
4/4/2689	rauwe produkten	4,2	4,6	0,9
4/4/1677	gebakken produkten	1,5	3,8	0,8
4/4/2690	gebakken produkten	3,2	5,3	0,7
4/4/1678	gebakken produkten + groente	2,7	3,8	1,0
4/4/2691	gebakken produkten + groente	4,4	5,7	1,3
4/4/1674	SSP-TOX (Trouw)	12,4	9,9	8,0
4/4/2687	SSP-TOX (Trouw)	12,1	9,5	7,4
4/4/1675	SSP-TOX + groente	12,5	10,7	8,1
4/4/2688	SSP-TOX + groente	11,6	11,2	7,3

(1) Berekening totaal voedingsvezel volgens voedingsvezel =
 $100\% - \% \text{vocht} - \% \text{ruw eiwit} - \% \text{as} - \% \text{vet} - \% \text{totaal koolhydraten}^*$

* % totaal koolhydraten = % volgens intern voorschrift A 82; de suikers glucose, fructose, saccharose echter niet uitgedrukt als zetmeel.

De monsters zijn grondstoffen en pellets voor toxicologisch onderzoek met ratten.

Tabel 5 Vergelijking handmethode met Fibertec E

	% voedingsvezel in de droge stof	
	RIKILT handmethode	Tecator Zweden Fibertec E
Samengesteld diervoeder	16,0 15,0	16,9 ± 0,3
Volkorenbrood	10,7 10,7 11,1	10,6 ± 0,1
	RIKILT filtratietijd*	Tecator filtratietijd
Samengesteld diervoeder	90-130 min*	50 min
Volkorenbrood	30 min*	50 min

* Bij blanco bepalingen en de monsters diervoeders diende de vezellaag in de kroes gebroken te worden met een spatel om de filtratie te versnellen (filter slaat dicht).