

ISOLATIE EN ANALYSE VAN PLANTAARDIGE
CELWANDEN

E.G. Pannebakker

CABO-verslag nr. 46

1947d

INHOUD

| | blz. |
|--|------|
| Inleiding | 1 |
| Beschikbare methoden | 2 |
| Methodekeuze | 8 |
| NDR-bepaling van Van Soest | 9 |
| Analyse met neutrale detergens | 10 |
| Verlaging van de detergensconcentratie | 11 |
| Resultaten met verschillende gewassen | 14 |
| Enzymatische hydrolyse van eiwit in NDR | 17 |
| Invloed van de methode van drogen | 18 |
| Conclusies | 23 |
| Literatuur | 24 |
| Figuren | 28 |
| Lijst van gebruikte termen en afkortingen in dit verslag en in de aangehaalde literatuur. | 30 |

INLEIDING

De celwand van hogere planten bestaat in hoofdzaak uit: koolhydraten, enig eiwit en bij oudere plantecellen lignine. De celwanden omvatten in de meeste gevallen 30-70% van de droge stof van het totale plantemateriaal; het voornaamste deel hiervan zijn de structurele koolhydraten. Hiermee worden die koolhydraten aangeduid die zich in de celwand bevinden en zich in bindingswijze en in polymerisatiegraad onderscheiden van de koolhydraten van de celinhoud.

Voor het analyseren van de groei van de plant is het belangrijk over een methode te beschikken die structurele koolhydraten onderscheidt van de koolhydraten van de celinhoud, die grotendeels als reserve voor de plant beschikbaar zijn.

In dit verslag zijn verschillende methoden waarmee celwand en celinhoud kunnen worden gescheiden beoordeeld op de volgende criteria:

- de mate waarin structurele van niet structurele koolhydraten en celwandeiwit van protoplasmaeiwit gescheiden worden;
- de geschiktheid van de bepaling voor grote hoeveelheden monsters ;
- de toepasbaarheid op gedroogde monsters;
- de geschiktheid voor materialen afkomstig van verschillende gewassen;
- de geschiktheid voor alle delen van de plant (blad, stengel, wortel, vrucht) in opeenvolgende ontwikkelingsstadia.

Verschiedende onderzoekers hebben met behulp van onder andere enzymatische methoden vorming en bindingswijze van de bouwstenen van de celwand onderzocht, wat nog niet tot een geheel eenduidig beeld heeft geleid (Albersheim, e.a. 1973; Katō 1981; Lampert 1980 en 1980a; Mc Neil e.a. 1979; Northcote 1982 en Preston 1979). Desondanks is door vergelijking van de resultaten van diverse onderzoekers de overtuiging gegroeid dat de celwanden van alle hogere planten op dezelfde wijze zijn opgebouwd, met ondergeschikte verschillen tussen mono- en dicotylen. De belangrijkste recente gegevens betreffen de samenstelling van het celwandeiwit en de rol die het speelt bij de vorming van de primaire celwand. Het is moeilijk de binding van dit eiwit met de celwand te verbreken. Onderzoek naar de samenstelling van dit eiwit toonde aan dat het een glycoproteïne is dat in tegenstelling tot het protoplasmaeiwit een hoog gehalte aan hydroxyproline heeft (Selvendran 1975, 1975a en 1975b; O'Neill en Selvendran 1980; Selvendran en O'Neill 1981).

Eiwitgehalten van de celwand worden opgegeven voor monocotylen door Burke e.a. (1974) 4-17%; voor dicotylen (Acer) door Lamport (1965) 13% en door Heath en Northcote (1971) 5,6%. Dit betreft eiwitgehalten van een fysiologisch jonge celwand.

Gezocht is naar methoden om met eenvoudige middelen de celwand uit plantaardig materiaal van verschillende ouderdom te isoleren, rekening houdende met bovengenoemde feiten. De voornaamste bestanddelen van de celinhoud die verwijderd moeten worden zijn: protoplasmaeiwit, vetten en lipiden, oplosbare suikers en zetmeel, organische en anorganische zouten. Hiervan geeft het eiwit de meeste problemen; het is na drogen bijna niet meer op te lossen.

BESCHIKBARE METHODEN

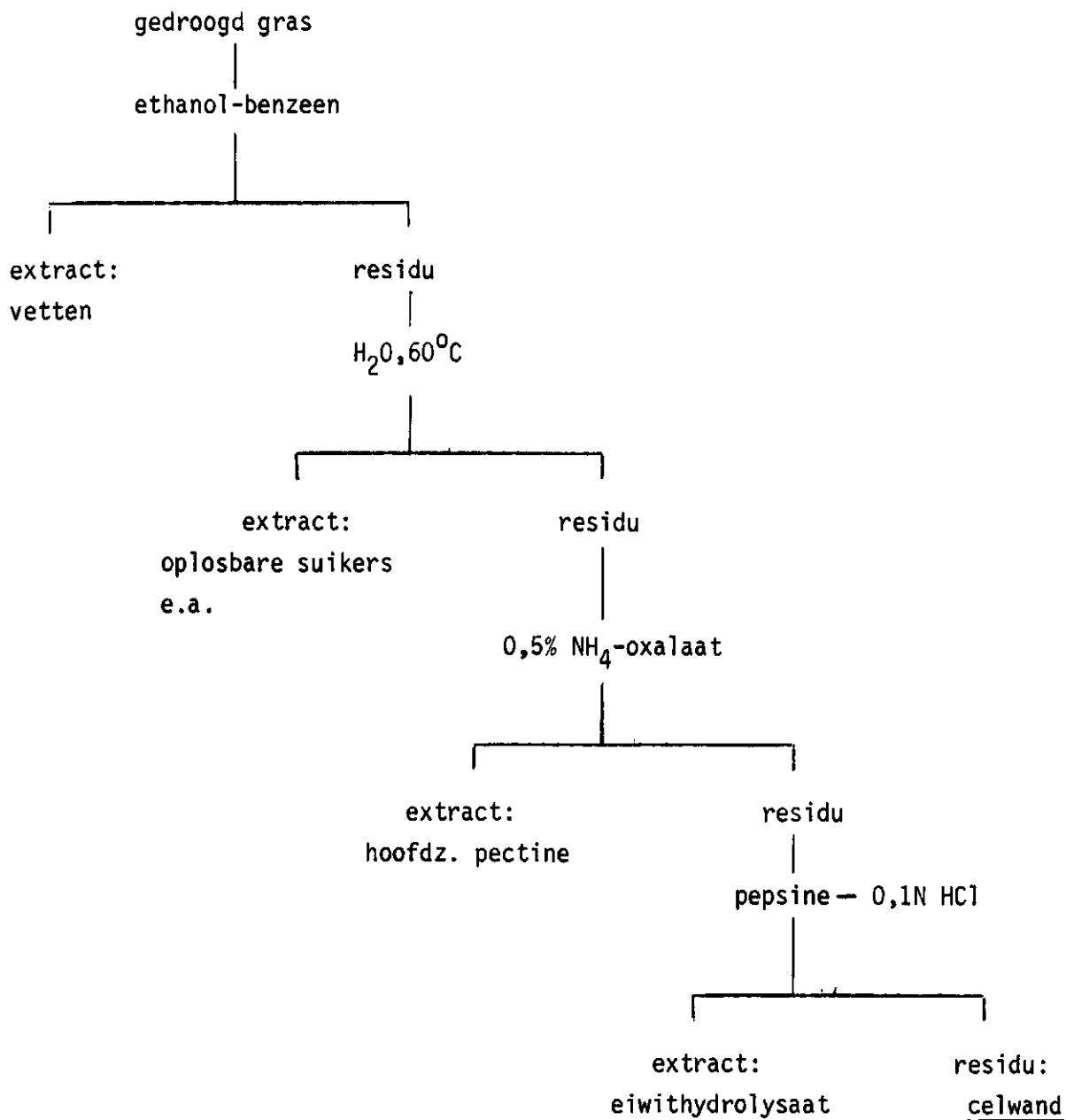
In de literatuur beschreven methoden die bruikbaar zijn om celwandmateriaal te isoleren worden hierna kort beschreven en van commentaar voorzien. De belangrijkste scheidingsmethoden zijn weergegeven, voor zover ze betrekking hebben op de isolatie van celwandmateriaal. Verdere opsplitsing van de fracties die voor dit doel van geen belang zijn, is weggelaten.

1 Waite en Gorrod (1959)

Materiaal: gedroogd gras (100-110°C).

Doel : fractionering van gras, analyse van de fracties

schema :



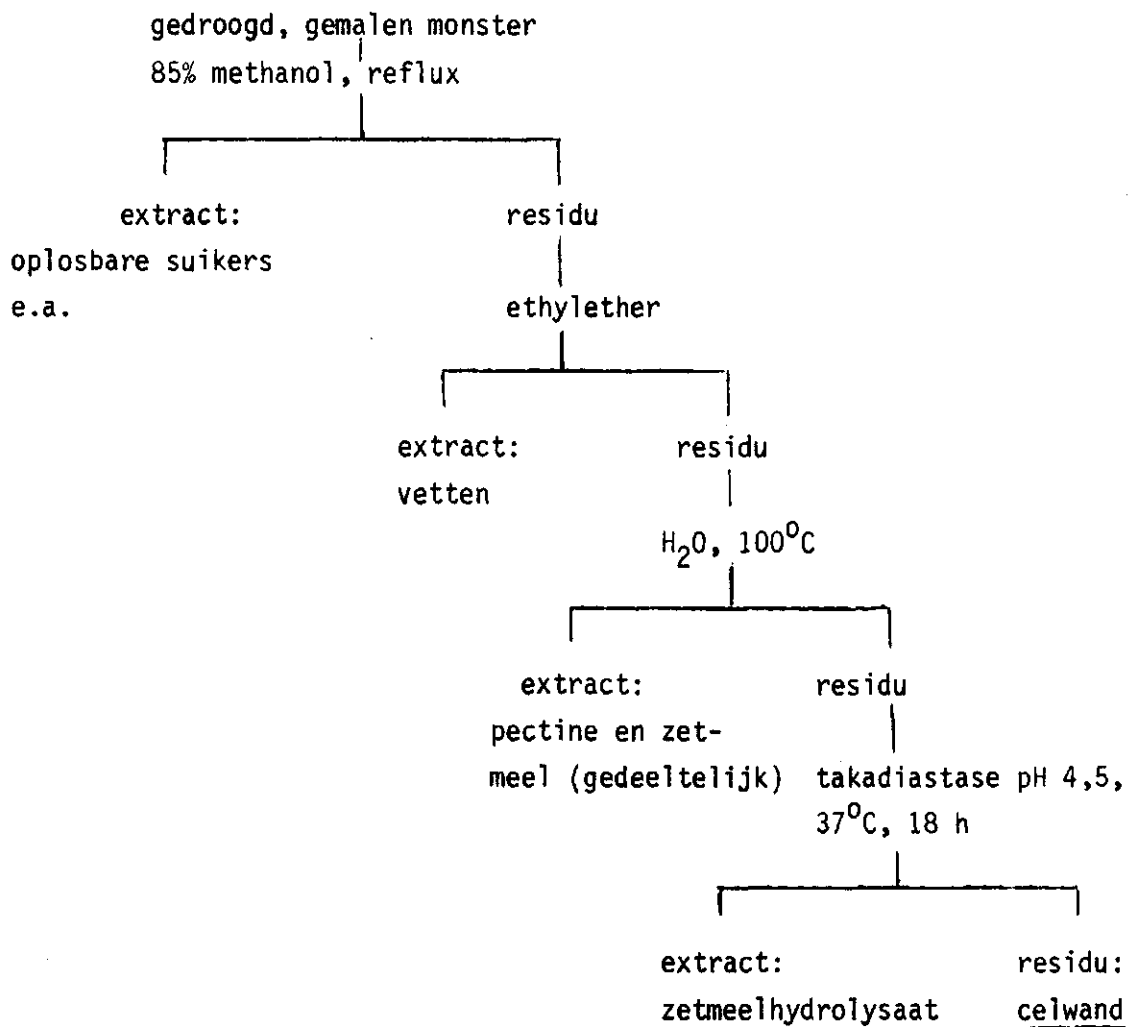
Door extractie met water bij 60°C lossen de in grassen als reservekoolhydraat voorkomende fructosanen op; zetmeel lost niet op.

2 Southgate (1969)

Materiaal: produkten voor menselijke voeding, (droogtemperatuur?)

Doel : bepaling "voedingsvezel" bestaande uit holocellulose (= cellulose + lignine), hemicellulose en pectine. Deze stoffen zijn voor de mens onverteerbaar.

Schema :



In dit schema wordt geen aandacht gegeven aan de scheiding: protoplasmaeiwit-celwandeiwit. Takadiastase heeft nauwelijks eiwitsplitsende werking.

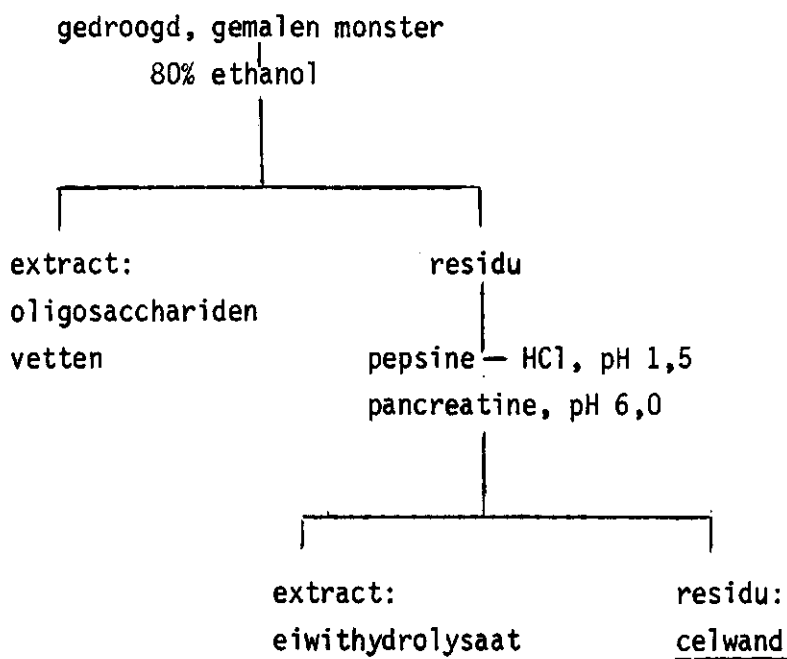
Southgate noemt het in water oplosbare deel van de pectine "soluble fibre", een wat merkwaardige term die aanduidt dat het in het darmkanaal van de mens niet verteert en tot de "voedingsvezel" gerekend wordt.

3 Hellendoorn e.a. (1975)

Materiaal: gedroogde voedingsprodukten (droogtemperatuur?)

Doel : bepaling van voedingsvezel

Schema :



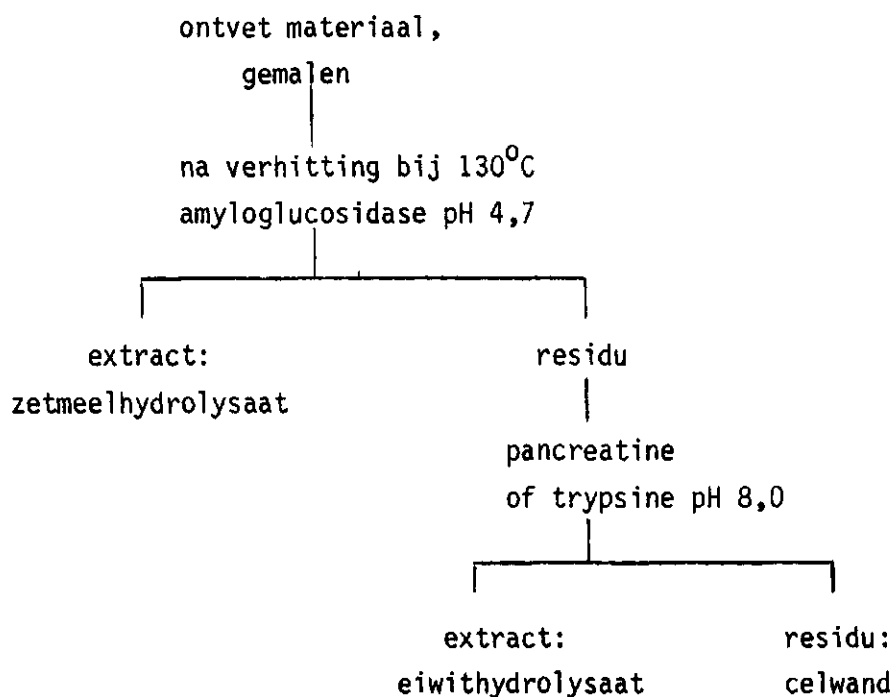
De enzymatische stappen bootsen het verteringsproces in het menselijke spijsverteringsorgaan na. Zetmeel wordt bij de pancreatine-behandeling voor een groot deel omgezet. Hiervoor is het nodig zetmeel met een voorbehandeling oplosbaar te maken (in dit schema niet aangegeven).

4 Elchazly en Thomas (1976)

Materiaal: graanprodukten

Doel : bepaling voedingsvezel in graanprodukten

Schema :



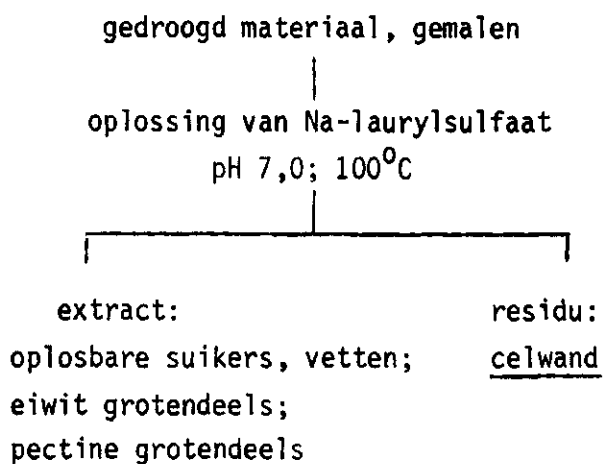
De warmtebehandeling bij 130⁰C is nodig om het moeilijk oplosbare zetmeel uit graanprodukten oplosbaar te maken. Het is niet zeker of pancreatine respectievelijk trypsine zonder voorafgaande pepsinebehandeling in staat is het protoplasmaeiwit op te lossen.

5 Van Soest 1963, Van Soest en Wine 1967

Materiaal : veevoerders

Droogmethode : meestal niet gespecificeerd, van 100-110⁰C tot 50⁰C, soms vriesdrogen

Schema :



De oplosbaarheid van celwandbestanddelen, afhankelijk van de pH in de oplosvloeistof waaraan een oppervlaktespanningverlagend wasmiddel, een "detergens", is toegevoegd, wordt door Van Soest in de volgende grafiek weergegeven (Van Soest en Robertson 1977). Cellulose is onder deze omstandigheden onoplosbaar mits de pH beneden 12 is.

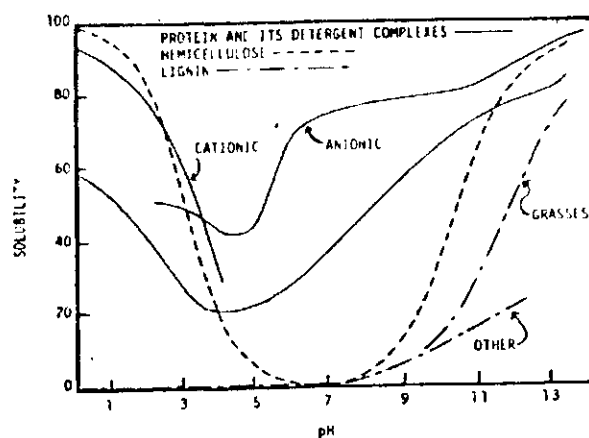


Figure 1. The relative solubility of forage hemicellulose, lignin, protein and protein-detergent complexes in boiling aqueous medium at different pH. Cellulose (not shown) is relatively insoluble over the pH range of 0-12. Some solution may occur at very high pH. (Van Soest, 1968).

Uit de grafiek blijkt een minimale oplosbaarheid van celwandbestanddelen bij pH 7.

Het verkregen celwandpreparaat wordt door Van Soest aangeduid als neutral detergent residue (NDR) of als neutral detergent fibre (NDF).

Behalve de voorgaande bepaling van het "neutral detergent residue" (NDR resp. NDF) heeft Van Soest de bepaling van het "acid detergent residue" (ADR resp. ADF) ontwikkeld (Van Soest 1963a). Volgens deze methode wordt het monster gekookt met een oplossing van een detergens in 1N H_2SO_4 . Hierbij lost naast de celinhoud de hemicellulose van de wand op. Dit zou het mogelijk maken om hemicellulose te bepalen als NDR - ADR (Van Soest 1966). Dit is bij de meeste materialen onvoldoende verantwoord; zie onder andere Bailey en Ulyatt (1970) en Van Soest en Robertson (1980). ADR wordt het meest gebruikt als maat voor de ad libitum opname.

METHODEKEUZE

Vorengenoemde methoden worden hierna kort besproken. De analyse van pectinerijke monsters levert steeds analytische en interpretatiemoeilijkheden op omdat de pectine ten dele in water oplosbaar is. Alleen Southgate (1969) scheidt en bepaalt beide fracties. Daar vele materialen weinig pectine bevatten kan de in water oplosbare pectine in de meeste gevallen buiten beschouwing blijven.

- 1 Waite en Gorrod houden geen rekening met de eventuele aanwezigheid van zetmeel. De methode is dus alleen geschikt voor produkten waarin nooit zetmeel voorkomt (b.v. grassen van niet-tropische oorsprong).
- 2 Southgate geeft een koolhydraatfractionering: protoplasmaeiwit wordt niet opgelost.
- 3 Hellendoorn poogt het verteringsproces (van niet-herkauwers) na te bootsen. Pepsine-HCl kan hemicellulose in geringe mate oplosbaar maken. Pancreatine heeft zowel een eiwit- als een zetmeelsplitsende werking. Het is bij deze methode echter niet zeker of (zonder voorbehandeling) zetmeel voldoende ontsloten is om enzymatisch aangetast te kunnen worden.
- 4 De methode Elchazly en Thomas is geschikt voor zetmeelrijke monsters. De verwijdering van eiwit is waarschijnlijk onvoldoende.
- 5 Van Soest lost de celinhoud in één arbeidsgang op. Niet al te grote hoeveelheden vet worden door het detergens geëmulgeerd en zetmeel wordt opgelost bij 100°C, alleen bij grote hoeveelheden is een voorafgaande verwijdering van vet of een enzymatische behandeling om zetmeel af te breken nodig (Robertson en Van Soest 1977; Mc Queen en Nicholson 1979).

Resumerende kan gezegd worden dat de NDR-methode van Van Soest het meest eenvoudig en algemeen toepasbaar lijkt. Daar gewasmonsters met een vetgehalte boven 5% en met een zetmeelgehalte boven 10% in ons laboratorium weinig worden analyseerd is de methode onder onze omstandigheden geschikt voor een eenvoudige en snelle analyse.

De NDR-methode (soms op enkele punten gewijzigd) wordt onder andere door de volgende auteurs toegepast: Bailey en Ulyatt (1970); Bailey en Jones (1971); Barton e.a. (1976); Bosman (1967, 1970); Deinum en Van Soest (1969); Gaillard (1966); Gaillard en Nijkamp (1968); Jones en Bailey (1972); Kirchgessner e.a. (1978); Kühbauch en Voigtländer (1979); Ranfft e.a. (1976); Salewski (1970) Smith e.a. (1982); Theander en Aman (1980); Tinnimit en Thomas (1976).

Dit gebruik omvat onder andere:

- a. de scheiding van oplosbare en celwandkoolhydraten; voorbereiding voor onderzoek van de celwand (o.a. voor ligninebepaling);
- b. het vervolgen van de hoeveelheid celwand t.o.v. celinhoud tijdens groei en ontwikkeling van een plant of gewas;
- c. het onderzoek naar verteerbaarheid. Uit het NDR wordt via een regressievergelijking de "in vivo" verteerbaarheid berekend.
 - a en b sluiten het meest aan bij onze doelstelling.

Ondanks de brede toepassing zijn gegevens over de samenstelling van het met de NDR-methode verkregen celwandpreparaat schaars.

Enkele gegevens zijn te vinden bij: Van Soest (1963, Van Soest en Wine 1967), Bailey en Ulyatt (1970) en Theander en Aman (1980). De gegevens blijven beperkt tot enkele materialen zoals gras, hooi en klaver. Jones en Bailey (1972) tonen een invloed van de droogmethode van het monster(bij gras- en klavermonsters) aan. Op dit punt is aanvullend onderzoek gewenst.

NDR-BEPALING VAN VAN SOEST

De NDR-bepaling wordt omschreven als een snelle methode om de totale hoeveelheid vezel in plantaardige voedermiddelen te bepalen. Het voorschrift voor de bepaling in Forage Fiber Analysis (1970) wordt hier enigszins verkort en bewerkt weergegeven (geen beschrijving van de apparatuur).

Analyse met neutrale detergens

Reagentia:

1. Neutrale detergensoplossing (ND-opl.)

In 1 l gedestilleerd water:

| | |
|---|--------|
| Natriumlaurylsulfaat (NLS) | 30 g |
| Dinatrium-ethyleendiamine tetraacetaat 2 H ₂ O (EDTA) p.a. | 18,6 g |
| Natriumboraat. 10 H ₂ O p.a. | 6,81 g |
| Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O p.a. | 4,56 g |
| 2-ethoxyethanol (ethyleenglycolmonoethylether)pur. | 10 ml |

pH 6,9 tot 7,1; controleren, zonodig bijstellen.

Opmerking: zouten in weinig warm water oplossen. NLS stuift erg, aanroeren met weinig water, daarna oplossen in warm water. Ingrediënten bijeenvoegen, afkoelen, aanvullen en pH controleren. NLS kan bij lage kamertemperatuur uitvlokken, omdat de oplossing bijna verzadigd is.

2. Dekahydronaftaleen (dekaline) p.a.

3. Aceton (moet kleurloos zijn en geen verdampingsrest opleveren)

4. Natriumsulfiet, watervrij, p.a.

Analyse:

- Weeg af 1,000 g luchtdroog monster, gemalen tot 20-30 mesh (1 mm).
- Voeg toe: 100 ml ND-oplossing, 2 ml dekaline en ca 0,5 g Na-sulfiet. Verhit tot koken in 5-10 min. Kook onder reflux gedurende 1 uur. Zorg voor regelmatig koken en voorkom overmatig schuimen.
- Filtreer af in getarreerd goochkroesje (met filterbed). Monster omzwenken, zo weinig mogelijk vacuüm gebruiken. Was het monster over in het kroesje met zo weinig mogelijk heet water (90-100°C). Nawassen met heet water, eerst de filterkoek breken om doordringen van de wasvloeistof te bevorderen, herhalen tot het monster ongeveer zeepvrij is.
- Tweemaal wassen met aceton. Droog bij 100°C gedurende minstens 8 uur. Wegen.
- Geef NDR op als celwandbestanddelen in g.kg⁻¹DS. Oplosbaar materiaal = 1000 - NDR.
- Bepaal as in NDR door het gloeien van het kroesje gedurende 3 uur bij 500-550°C.

Dit voorschrift is door de meeste auteurs op enkele punten gewijzigd.

Natriumsulfiet, bedoeld om het oplossen van eiwit te bevorderen door verbreken van de S-S binding, wordt meestal weggelaten, daar sulfiet een deel van de lignine oplost. Van Soest meldt dit in 1979 (Van Soest en Robertson 1980). Weglaten van sulfiet was voordien reeds de gebruikelijke procedure (o.a. Gaillard 1966 en Hartley 1972), hoewel deze methodische wijziging niet door iedereen uitdrukkelijk vermeld wordt.

Wijzigingen van ondergeschikt belang zijn:

- het vervangen van goochkroesjes door vuurvaste glasfilterkroesjes G2 (de bepaling van de gloeirest gaat dan als volgt: kroesje met as wegen, kroesje ledigen, kroesje terugwegen; het kroesje kan namelijk bij gloeien iets gewicht verliezen);
- het weglaten van het antischuimmiddel dekaline;
- het uitvoeren van de analyse met de Fibertec halfautomaat (firma Tecator) wat de filtratie en het wassen aanzienlijk vereenvoudigt.

Het gebruik van de Fibertec automaat heeft de volgende voordelen:

- het koken vereist minder toezicht;
- men weegt direct in het filterkroesje in, het wassen kan in het apparaat gebeuren zonder overspoelen. Hinderlijk is dat door de hoge NLS-concentratie de leidingen snel verstopt raken en een uitkoken van het apparaat met water nodig is.

Verlaging van de detergensconcentratie

Bij de voorgeschreven hoge concentratie NLS is veel wasvloeistof nodig om het NLS kwantitatief te verwijderen. Het residu kan dan niet gebruikt worden voor verdere analyses. Nagegaan is of de NLS-concentratie zonder bezwaar kan worden verlaagd. Bovendien of het mogelijk is EDTA weg te laten en zo het onttrekken van pectine aan de celwand tegen te gaan.

De methode werd als volgt gevarieerd:

| | NLS 3% | NLS 0,5% | EDTA | sulfiet | dekaline |
|---|-----------|-------------|------|---------|----------|
| A | + | - | + | - | - |
| B | + | - | - | - | - |
| C | - | + | + | - | - |
| D | - | + | - | - | - |

Overige bestanddelen ongewijzigd. Bij B en D moest de pH bijgesteld worden.

De methoden B en D bleken onbruikbaar doordat ze een te hoge gloei-rest opleverden. Organische Ca^{2+} -verbindingen losten bij afwezigheid van EDTA niet op en dragen als CaCO_3 bij tot de gloeirest. Dit kunnen zijn oxalaat en citraat (celinhoud) of pectine (celwand).

Methode A en methode C bleken nagenoeg dezelfde NDR op te leveren (figuur 1, p. 28). Ook de hoeveelheid eiwit die bij gebruik van methode A oploste verschilde nauwelijks van die bij methode C (figuur 2, p. 29). Dit is getoetst met monsters van verschillende herkomst en door middel van verschillende methoden gedroogd. Gemiddelden voor drie series monsters zijn gegeven in tabel 1.

Tabel 1. Vergelijking methode C en methode A, NDR en opgelost eiwit in g.kg^{-1} DS.

| monsters | NDR | | | NDR - (eiwit in NDR) | | | opgelost eiwit | | |
|---|-----|-----|------------------------|----------------------|-----|------------------------|----------------|-----|------------------------|
| | C | A | ver- schil C - A | C | A | ver- schil C - A | C | A | ver- schil C - A |
| uiteenlopende materialen, gedroogd 70°C daarna 100°C (n = 24) | 452 | 443 | 9 | 398 | 391 | 7 | 95 | 97 | -2 |
| Grasmonsters, gedroogd 70°C (n = 20) | 486 | 483 | 3 | 403 | 402 | 1 | 112 | 114 | -2 |
| grasmonsters, zelfde partij gevriesdroogd (n = 20) | 428 | 419 | 9 | 380 | 377 | 3 | 150 | 156 | -6 |
| gem. alle monsters | 455 | 448 | 7 | 394 | 390 | 4 | 118 | 121 | -3 |

Conclusie: Uitkomsten van methode C (0,5% NLS) verschillen zo weinig met die van de oorspronkelijke methode dat toepassing verantwoord is. Voortaan worden om praktische redenen alle analyses met de Fibertec met methode C uitgevoerd. (Uit de literatuur: Van Soest en Robertson (1980). menen dat bij hoge eiwitgehalten de NLS-concentratie onvoldoende is; Fonnesbeck en Harris (1970) vinden geen invloed van halvering van de detergensconcentratie, wat de mening van Van Soest niet bevestigt maar met onze gegevens in overeenstemming is.

Verderop in dit verslag wordt nader ingegaan op het feit dat uit gevriesdroogde grasmonsters meer eiwit in oplossing gaat dan uit bij 70°C gedroogde monsters.

Resultaten met verschillende gewassen

Om na te gaan of de methode geschikt is voor monsters van verschillende aard werden uiteenlopende materialen met methode C geanalyseerd. Deze monsters zijn bij 70°C in een circulatiestoof gedroogd, daarna nagedroogd bij 100-110°C.

Bepaald werden (uitgedrukt in $\text{g.kg}^{-1}\text{DS}$, in dit verslag in absolute droge stof):

- NDR in duplo (standaardafwijking $4,5 \text{ g.kg}^{-1}$);
- in een van de duplobepalingen gloeirest;
- in de andere N-totaal, omgerekend tot eiwit ($N \times 6,25$).

De gloeirest is in normale gevallen laag, in zandvrije monsters 10 tot hoogstens 20 g.kg^{-1} DS. Er is steeds NDR-gloeirest in de berekening gebruikt omdat dan ook gehalten van zandhoudende monsters vergelijkbaar zijn.

Uit de resultaten, gegeven in tabel 2 blijkt dat de hoeveelheid eiwit die in het NDR gevonden wordt variabel is en afhankelijk van aard en ouderdom van het materiaal (kolom b). Dit eiwit kan bestaan uit celwandeiwit en uit onopgelost protoplasmaeiwit. Om te kunnen beoordelen in hoeverre onopgelost protoplasmaeiwit in het NDR aanwezig is werd het eiwitgehalte van het NDR berekend (NDR is bij benadering gelijk te stellen met de celwand (kolom d). Dit gehalte is bij vezelig materiaal, bijvoorbeeld stengels, laag, maar bij andere materialen hoog, aanzienlijk hoger dan als maximaal eiwitgehalte van de celwand te verwachten valt.

Bovendien wordt in sommige monsters in het NDR een hoger eiwitgehalte gevonden dan in het totale monster. Daar het niet aannemelijk is dat de celwand een hoger eiwitgehalte heeft dan de celinhoud zal in die gevallen een deel van het protoplasmaeiwit niet opgelost en daardoor ten onrechte tot de celwand gerekend zijn. Ook in andere gevallen valt dit niet geheel uit te sluiten. Uit literatuurgegevens blijkt dat in residuen van met detergens geëxtraheerd materiaal uiteenlopende eiwitgehalten worden gevonden, zoals in tabel 3 is weergegeven.

Tabel 2. NDR en eiwit in het NDR, van monsters met hoog en laag eiwitgehalte.

| Monster | a | b | d | e |
|---------------------------------------|-----|-------------------|---------------|------------------|
| | NDR | RE _{NDR} | b/a x 1000 | RE _{DS} |
| 1 gras, lage N-bem. mei | 533 | 71 | 133 | 152 |
| 2 gras, lage N-bem. aug. | 503 | 111 | 221 | 260 |
| 3 gras, hoge N-bem. mei | 460 | 94 | 204 | 260 |
| 4 gras, hoge N-bem. aug. | 497 | 85 | 171 | 270 |
| 5 hooiland, aug. | 654 | 38 | 58 | 87 |
| 6 maïsblad, jong | 648 | 73 | 113 | 143 |
| 7 maïsblad, oud | 730 | 25 | 34 | 94 |
| 8 maïsstengel, jong | 538 | 12 | 22 | 55 |
| 9 maïsstengel, oud | 785 | 13 | 17 | 67 |
| 10 maïsstengelmerg, jong | 314 | 4 | 13 | 67 |
| 11 maïsstengel, jong, oud | 709 | 13 | 18 | 91 |
| 12 bietebblad, aug. | 210 | 40 | 190 | 183 |
| 13 bietebblad, nov. | 240 | 40 | 167 | 159 |
| 14 bietebblad nov. | 271 | 58 | 214 | 191 |
| 15 veldboneblad, juni | 195 | 51 | 262 | 300 |
| 16 veldboneblad, aug. | 424 | 118 | 278 | 240 |
| 17 veldbonestengel, juni | 299 | 32 | 107 | 160 |
| 18 veldbonestengel, aug. | 682 | 22 | 32 | 47 |
| 19 zonnebloemblad, juni | 396 | 200 | 505 | 292 |
| 20 zonnebloemblad, sept. | 204 | 45 | 221 | 107 |
| 21 zonnebloemblad, dor, sept. | 349 | 54 | 155 | 119 |
| 22 zonnebloemstengel, juni | 320 | 51 | 159 | 139 |
| 23 zonnebloemstengel, sept. | 624 | 14 | 22 | 33 |
| 24 zonnebloem, bloem- bodem, sept. | 270 | 26 | 96 | 60 |

Legenda, tevens voor de tabellen 3, 4, 5, 6 en 7 (kolom c ontbreekt bij tabel 2 en 3; kolom e bij tabel 4).

kolom a: NDR g.kg⁻¹ DS: gemiddelde van duplo's - gloeirest

kolom b: RE, achtergebleven in NDR in g.kg⁻¹ DS

kolom c: eiwitvrije NDR; a - b

kolom d: RE, achtergebleven in NDR in g.kg⁻¹ NDR; b/a x 1000

kolom e: RE g.kg⁻¹ DS.

Tabel 3. Samenstelling van residuen na extractie met detergens onder verschillend omstandigheden; gegevens uit literatuur.

| Auteur | jaartal | materiaal | pH | sulfiet | a | b | d | e |
|-------------------------|---------|----------------------|-----|---------|-----|-------------------|------------|------------------|
| | | | | | NDR | RE _{NDR} | b/a x 1000 | RE _{DS} |
| Van Soest | 1963 | gras/klaver- hooi | 7,4 | + | 530 | 59 | 117 | 162 |
| Fonnesbeck en Harris | 1970 | luzernehooi | 3,5 | - | 348 | 83 | 239 | 250 |
| Theander en Aman | 1980 | stro | 7,0 | wsch. + | 773 | 8 | 10 | 25 |
| | | gras | 7,0 | wsch. + | 567 | 24 | 43 | 81 |
| | | luzerne | 7,0 | wsch. + | 407 | 22 | 55 | 144 |

a, b, d en e zie tabel 2.

Invloed van sulfiet

Dat sulfiet bij de NDR-bepaling het oplossen van eiwit bevordert, blijkt uit de gegevens van Van Soest en Wine (1967). Sulfiet werd aanvankelijk toegevoegd aan de ND-oplossing ter bevordering van het oplossen van het eiwit van de celinhoud. Het lost echter ook lignine op (o.a. Van Soest en Robertson, 1978). De resultaten van Van Soest en Wine (1967) worden weergegeven in tabel 4. Ligninegehalten werden niet opgegeven. De droogtemperatuur van de monsters is onbekend.

Tabel 4. Invloed van sulfiet op NDR en eiwit in NDR (gegevens Van Soest en Wine, 1967).

| | a | | b | | c | | d | |
|--------------------|---------|-----|-------------------|----|---------|-----|----------|-----|
| | NDR | | RE _{NDR} | | a - b | | b/a.1000 | |
| | sulfiet | | sulfiet | | sulfiet | | sulfiet | |
| | + | - | + | - | + | - | + | - |
| 1. luzerne (vroeg) | 363 | 384 | 27 | 51 | 336 | 333 | 74 | 133 |
| 2. luzerne (vroeg) | 427 | 469 | 28 | 54 | 399 | 415 | 66 | 115 |
| 3. luzerne (laat) | 504 | 542 | 39 | 56 | 465 | 486 | 77 | 103 |
| 4. kropbaar | 540 | 564 | 46 | 67 | 494 | 497 | 85 | 119 |
| 5. timothee | 603 | 609 | 55 | 67 | 548 | 542 | 91 | 110 |
| 6. timothee | 654 | 666 | 14 | 17 | 640 | 649 | 21 | 26 |
| gem. | 515 | 539 | 35 | 52 | 480 | 487 | 69 | 101 |

(a, b, c en d zie tabel 2)

Uit tabel 4, kolom b blijkt een duidelijke invloed van het gebruik van sulfiet op de oplosbaarheid van het eiwit, vooral bij de monsters 1 tot en met 4.

Enzymatische hydrolyse van eiwit in NDR

In tabel 2 bleek het eiwitgehalte van het geïsoleerde NDR vaak boven de verwachte 10% te liggen. Dit eiwit zal met grote waarschijnlijkheid voor een deel niet tot de celwand behoren. Een mogelijkheid zou zijn deze overmaat eiwit met een eiwitsplitsend enzym te verwijderen. Pepsine is hiervoor niet geschikt omdat dit enzym bij lage pH werkzaam is waarbij ook celwandkoolhydraten in oplossing zouden kunnen gaan. Daarom werd geprobeerd bij enkele monsters met hoog eiwitgehalte in het NDR (monsternummers: 3, 14, 15, 16 en 20 tabel 2) dit eiwitgehalte te verlagen door behandeling met pancreatine bij pH 7,0. Noch een behandeling met pancreatine voorafgaand aan de NDR-bepaling, noch een nabehandeling van het NDR met pancreatine verlaagden het eiwitgehalte van het residu.

Werd zowel voor als na de pancreatinebehandeling een NDR-extractie uitgevoerd dan werd enig eiwit verwijderd. Bij gras (monster 2) daalde het eiwitgehalte van het NDR van 22 naar 19%. Bij andere materialen werden ook structurele koolhydraten opgelost, bij zonnebloemblad (20) 65% van het totaal, bij veldboneblad (15, 16) 10% resp. 20%. De NDR-bepaling wordt dus niet verbeterd door een pancreatinestap toe te voegen.

Invloed van de methode van drogen

In de literatuur is vermeld dat de droogmethode een aanzienlijke invloed heeft op de hoeveelheid en de samenstelling van het NDR. In tabel 5 worden getallen gegeven van Jones en Bailey (1972). Deze auteurs vergelijken een droogtemperatuur van 100°C (waarvan bekend is dat deze de monsters teveel verandert) met vriesdrogen (de minst "ingrijpende" methode voor plantaardig materiaal) via parallelmonsters uit een grotere partij genomen.

Tabel 5. NDR en eiwit in NDR bepaald in monsters gedroogd bij 100°C of gevriesdroogd (Jones en Bailey 1972).

| | a | | b | | c | | d | | e | |
|----------|------|------|-------------------|------|-------|------|------------|------|------------------|------|
| | NDR | | RE _{NDR} | | a - b | | b/a x 1000 | | RE _{DS} | |
| | 100° | vrdr | 100° | vrdr | 100° | vrdr | 100° | vrdr | 100° | vrdr |
| raaigras | 481 | 347 | 120 | 24 | 361 | 323 | 249 | 71 | 258 | 265 |
| kropaar | 471 | 316 | 113 | 14 | 358 | 302 | 244 | 59 | 306 | 305 |
| klaver | 339 | 195 | 94 | 5 | 245 | 190 | 280 | 28 | 277 | 263 |
| gem. | 430 | 286 | 109 | 14 | 321 | 272 | 258 | 53 | 280 | 278 |

a, b, c, d en e zie tabel 2.

Uit de tabel blijkt dat er grote verschillen zijn in NDR afhankelijk van de methode van drogen; drogen bij 100°C levert gemiddeld 50% hogere uitkomsten op. Dit is hoofdzakelijk, maar niet alleen, aan vermindering van de oplosbaarheid van het eiwit te wijten. Uit de vergelijking van het eiwitgehalte van het NDR (kolom d) van beide

droogmethoden blijkt dat uit het gevriesdroogde monster een NDR geïsoleerd wordt met een eiwitgehalte dat kan overeenkomen met het celwandeiwit (zie inleiding). Het eiwitgehalte van het NDR is bij drogen bij 100°C duidelijk hoger dan het gehalte celwandeiwit.

Drogen bij 100°C is echter niet algemeen gebruikelijk. Op het CABO worden monsters in het algemeen gedroogd in een circulatiestoof bij 65-70°C. Hierbij treedt nog zo weinig verandering in de samenstelling van het monster op dat de meeste analyses zonder problemen uitgevoerd kunnen worden. Om na te gaan of dit ook voor de NDR-bepaling geldt hebben we deze droogmethode vergeleken met vriesdrogen, voor gras van verschillende leeftijden en bemestingstoestand. Hiertoe werden telkens twee grasmonsters van ongeveer 200 g getrokken uit een grote diepgevroren partij. Na het drogen bij 70°C respectievelijk vriesdrogen werden de monsters gemalen en geanalyseerd (tabel 6, p. 21).

Uit tabel 6 blijkt dat er aanzienlijke verschillen zijn tussen de behandelingen wat betreft de NDR-bepaling en het eiwitgehalte van het NDR.

Deze kunnen veroorzaakt worden door:

1. bemonstering van de partij
2. verschil in droogmethode
3. nauwkeurigheid van de methode

1. Voor 1. geldt als criterium het totaal stikstofgehalte van het monster. Uit het gemiddelde van totaal eiwit (kolom e) blijkt een aanvaardbaar representatieve monstername. (In de met * gemerkte monsters is het RE van het gevriesdroogde monster >10% hoger dan van het bij 70°C gedroogde. Het is onwaarschijnlijk dat dit alleen aan de monstername te wijten is. In alle gevallen betreft het namelijk voorjaarsgras, waarin meer zogenaamde lagere N-verbindingen kunnen voorkomen, waarvan bij vriesdrogen minder verloren gaat.)
2. In de gemiddelden van deze serie zullen de variaties tussen de monsters (1) en de onnauwkeurigheid van de bepaling (3) grotendeels gecompenseerd worden. De gemiddelde verschillen tussen de droogmethoden zijn aanzienlijk.

Drogen bij 70°C geeft ten opzichte van vriesdrogen een NDR die gemiddeld 61 g.kg⁻¹ hoger is (kolom a), het eiwitaandeel hierin is 38 g.kg⁻¹ DS (kolom b). Het eiwitgehalte, van het geïsoleerde NDR (kolom d) van het gevriesdroogde monster is gemiddeld 11%, van het bij 70°C gedroogde monster 18%. Het eerste komt goed overeen met het verwachte gehalte aan celwandeiwit. Aannemend dat bij vriesdrogen het protoplasmaeiwit oplosbaar blijft dan valt dit als volgt te berekenen: protoplasmaeiwit = totaal eiwit gevriesdroogd monster (kolom e) - eiwit achtergebleven in NDR (kolom b). Dit bedraagt gemiddeld 147 g.kg⁻¹ DS. Voert men deze berekening uit voor het bij 70°C gedroogde monster, dan is het gemiddelde verschil 106 g.kg⁻¹ DS. De conclusie lijkt gerechtvaardigd dat door het drogen bij 70°C circa 30% van het protoplasmaeiwit onoplosbaar is geworden.

3. standaardafwijking van de NDR-bepaling $\pm 4,5$ g.kg⁻¹ DS
standaardafwijking van de eiwitbepaling $\pm 1,5$ g.kg⁻¹ DS
dus voor eiwitvrije NDR geldt ± 6 g.kg⁻¹ DS

Daar het gemiddelde verschil tussen de droogmethoden voor eiwitvrije NDR ruimschoots 6 g.kg⁻¹ DS overtreft lijkt het aannemelijk dat de methode van drogen niet alleen de oplosbaarheid van de eiwitten, maar ook die van de koolhydraten beïnvloedt.

Jones en Bailey (1972) vinden bij twee grasmonsters (tabel 5) in de bij 100°C gedroogde monsters t.o.v. de gevriesdroogde een met 144 g.kg⁻¹ DS verhoogde NDR, waarvan 97 g.kg⁻¹ eiwit. Deze grotere verschillen zijn te wijten aan de hoge droogtemperatuur.

Het is duidelijk dat het drogen de oplosbaarheid van het eiwit ongunstig beïnvloedt, drogen bij 100°C is schadelijker dan bij 70°C, vriesdrogen levert een NDR op die in eiwitgehalte de celwand het best benadert. Een (kleinere) invloed van drogen bij hogere temperatuur op de structurele koolhydraten is waarschijnlijk. Vriesdrogen verdient dan ook de voorkeur.

Tabel 6. NDR en eiwit in het NDR van grasmonsters bij 70°C gedroogd en gevriesdroogd.

Verschillende bemestingstrappen en oogstdata.

| N-bemesting (kg.ha ⁻¹ .jr ⁻¹) | oogstdatum | a | | b | | c | | d | | e | |
|---|------------|------|------|-------------------|------|-------|------|------------|------|------------------|------------------|
| | | NDR | | RE _{NDR} | | a - b | | b/a x 1000 | | RE _{DS} | |
| | | 70°C | vrdr | 70°C | vrdr | 70°C | vrdr | 70°C | vrdr | 70°C | vrdr |
| 150 | 12-05-80 | 384 | 350 | 55 | 27 | 329 | 323 | 143 | 77 | 107 | 108 |
| 600 | | 480 | 389 | 94 | 31 | 386 | 358 | 196 | 80 | 176 | 174 |
| 1000 | | 462 | 378 | 100 | 32 | 362 | 346 | 216 | 85 | 212 | 194 |
| 0 | 15-09-80 | 527 | 471 | 69 | 35 | 458 | 436 | 130 | 74 | 127 | 140 |
| 300 | | 537 | 465 | 79 | 53 | 458 | 412 | 147 | 114 | 156 | 187 |
| 600 | | 519 | 444 | 110 | 71 | 409 | 373 | 212 | 160 | 227 | 233 |
| 1000 | | 487 | 405 | 119 | 66 | 368 | 339 | 244 | 163 | 243 | 249 |
| 0 | 10-06-81 | 547 | 496 | 47 | 30 | 500 | 466 | 86 | 60 | 107 | 117 |
| 450 | | 527 | 430 | 50 | 36 | 477 | 394 | 95 | 84 | 147 | 190 ^x |
| 600 | | 534 | 449 | 59 | 34 | 475 | 415 | 110 | 76 | 163 | 186 ^x |
| 900 | | 532 | 455 | 64 | 38 | 468 | 417 | 120 | 84 | 168 | 190 ^x |
| 0 | 13-07-81 | 480 | 417 | 54 | 27 | 426 | 390 | 113 | 65 | 127 | 123 |
| 450 | | 481 | 411 | 78 | 33 | 403 | 378 | 162 | 80 | 199 | 200 |
| 600 | | 459 | 376 | 99 | 43 | 360 | 333 | 217 | 114 | 242 | 248 |
| 900 | | 453 | 379 | 112 | 52 | 341 | 327 | 247 | 137 | 253 | 246 |
| 0 | 10-08-81 | 523 | 458 | 76 | 44 | 447 | 414 | 145 | 96 | 169 | 161 |
| 450 | | 505 | 444 | 89 | 51 | 416 | 393 | 176 | 115 | 211 | 221 |
| 600 | | 502 | 462 | 97 | 70 | 405 | 392 | 193 | 152 | 232 | 236 |
| 900 | | 498 | 447 | 101 | 64 | 397 | 383 | 203 | 143 | 237 | 248 |
| 0 | 07-09-81 | 506 | 443 | 82 | 41 | 424 | 402 | 162 | 93 | 161 | 162 |
| 450 | | 481 | 422 | 108 | 64 | 373 | 358 | 225 | 152 | 217 | 215 |
| 600 | | 473 | 423 | 104 | 66 | 369 | 357 | 220 | 156 | 222 | 222 |
| 900 | | 473 | 416 | 114 | 65 | 359 | 351 | 241 | 156 | 232 | 222 |
| 0 | 27-10-81 | 450 | 417 | 69 | 54 | 381 | 363 | 153 | 129 | 168 | 159 |
| 450 | | 442 | 446 | 80 | 50 | 362 | 396 | 181 | 112 | 206 | 197 |
| 600 | | 422 | 378 | 86 | 45 | 336 | 333 | 204 | 119 | 224 | 213 |
| 900 | | 435 | 405 | 95 | 51 | 340 | 354 | 218 | 126 | 219 | 206 |
| gem. (n=27) | | 486 | 425 | 85 | 47 | 401 | 378 | 176 | 111 | 191 | 194 |

(a, b, c, d, e zie tabel 2).

Of het eiwit van het NDR van gevriesdroogde monsters in alle gevallen alleen het celwandeiwit vertegenwoordigt is zonder verder onderzoek (b.v. door een hydroxyprolinebepaling) niet uit te maken.

Onderzoek van enkele andere materialen met een hoog eiwitgehalte bevestigde de invloed van het drogen die bij gras is aangetoond (tabel 7).

Tabel 7. NDR en RE_{NDR} in blad van veldboon en zonnebloem, gedroogd bij 70°C of gevriesdroogd.

| Materiaal | a NDR | | b RE_{NDR} | | c a - b | | d b/a x 1000 | | e RE_{DS} | |
|--|----------|------|-----------------|------|------------|------|-----------------|------|----------------|------|
| | 70°C | vrdr | 70°C | vrdr | 70°C | vrdr | 70°C | vrdr | 70°C | vrdr |
| 1. veldboneblad jong, topblad | 163 | 128 | 33 | 17 | 130 | 111 | 203 | 133 | 314 | 303 |
| 2. veldboneblad jong | 204 | 120 | 74 | 11 | 130 | 109 | 363 | 92 | 257 | 261 |
| 3. veldboneblad oud, nog groen | 195 | 190 | 35 | 16 | 160 | 174 | 180 | 84 | 173 | 168 |
| 4. zonnebloemblad jong | 372 | 149 | 145 | 31 | 227 | 118 | 372 | 208 | 330 | 342 |
| gemiddeld | 234 | 147 | 72 | 19 | 162 | 128 | 280 | 129 | 268 | 268 |
| gemiddeld, alleen jong materiaal (1, 2, 4) | 246 | 132 | 84 | 20 | 162 | 113 | 313 | 144 | 300 | 302 |

Bij de monsters 1 en 4 zijn door drogen bij 70°C ongeveer evenveel koolhydraten als eiwit onoplosbaar geworden. Beide monsters bestonden uit pas ontplooid bladeren en waren fysiologisch nog erg jong. Mogelijk

is bij dit zeer jonge materiaal nog vrij veel primaire celwand met hoog pectinegehalte aanwezig. De celwand bestaat in dit geval voor een groot deel uit pectinen (Northcote 1982) die bij drogen blijkbaar onoplosbaar zijn geworden.

CONCLUSIES

Bij het isoleren van celwanden uit gedroogd materiaal moet rekening worden gehouden met de samenstelling van het te onderzoeken materiaal en met veranderingen die bij de voorbereiding van het monster optreden.

De NDR-bepaling van Van Soest is een bruikbare methode voor de isolatie van celwanden uit gedroogde gewasmonsters met de volgende beperkingen:

- pectine lost gedeeltelijk op (dit valt ook bij de meeste andere methoden niet te vermijden);
- sulfiet mag niet worden toegevoegd (oplossen van lignine);
- protoplasmaeiwit lost niet volledig op; dit is onafhankelijk van de detergensconcentratie, maar sterk afhankelijk van de droogmethode. Vriesdrogen verdient de voorkeur;
- monsters met een hoog zetmeelgehalte kunnen alleen geanalyseerd worden als het zetmeel vooraf wordt afgebroken;
- sterk vethoudende monsters (b.v. oliehoudende zaden) moeten vooraf geëxtraheerd worden;
- het is toelaatbaar de detergensconcentratie van 3% tot 0,5% terug te brengen, waardoor de methode beter hanteerbaar wordt;
- bij analyse van gras was het gevonden NDR sterk afhankelijk van de droogmethode. Het NDR van bij 70⁰C gedroogde monsters had een hoger eiwitgehalte dan dat van het gevriesdroogde monsters van hetzelfde materiaal.
- bij jong bladmateriaal van veldboon en zonnebloem was ook het eiwitvrije deel van het NDR van het bij 70⁰C gedroogde monster aanzienlijk hoger dan dat van het gevriesdroogde monster, bij gras was dit in mindere mate het geval.

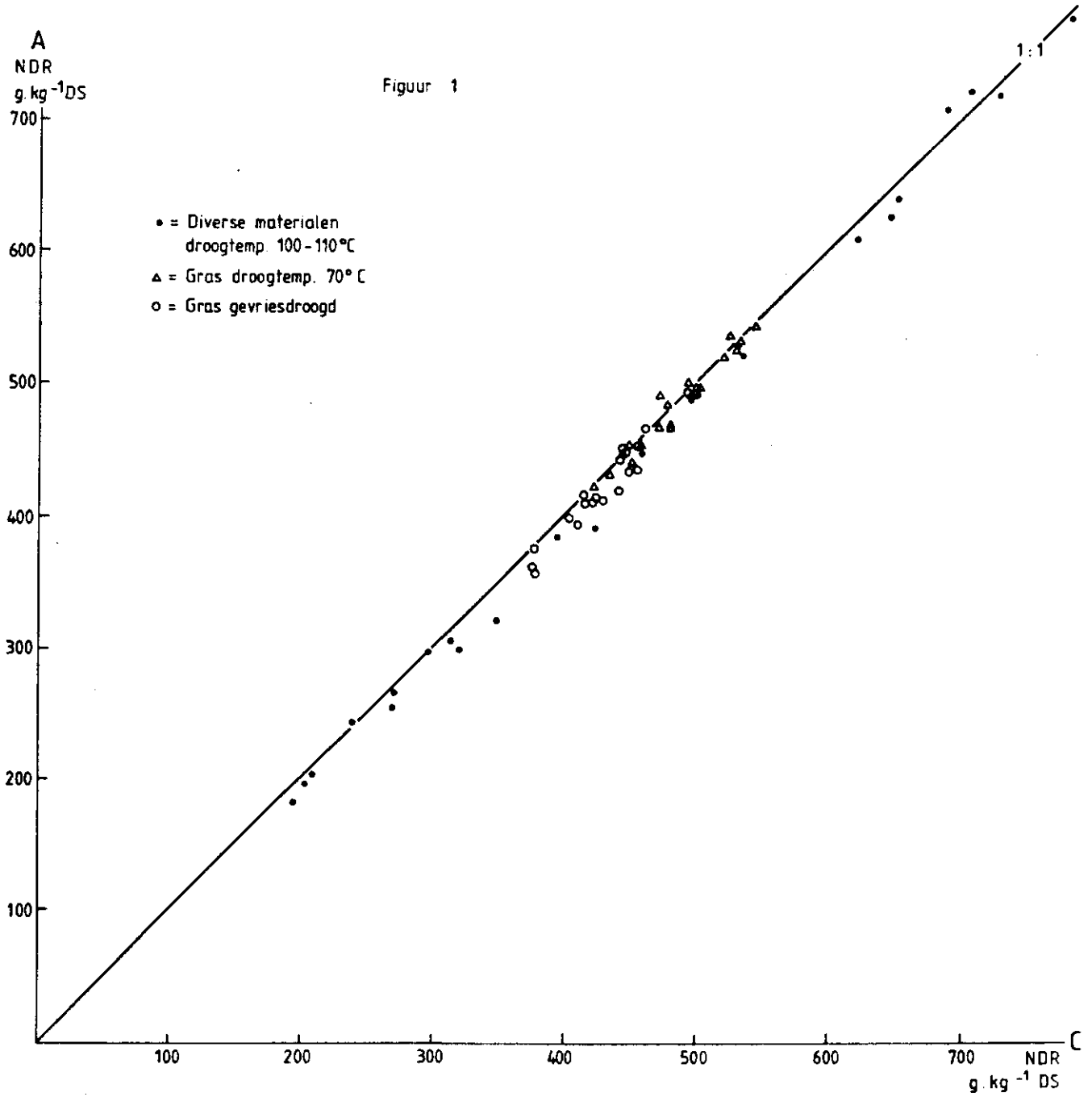
LITERATUUR

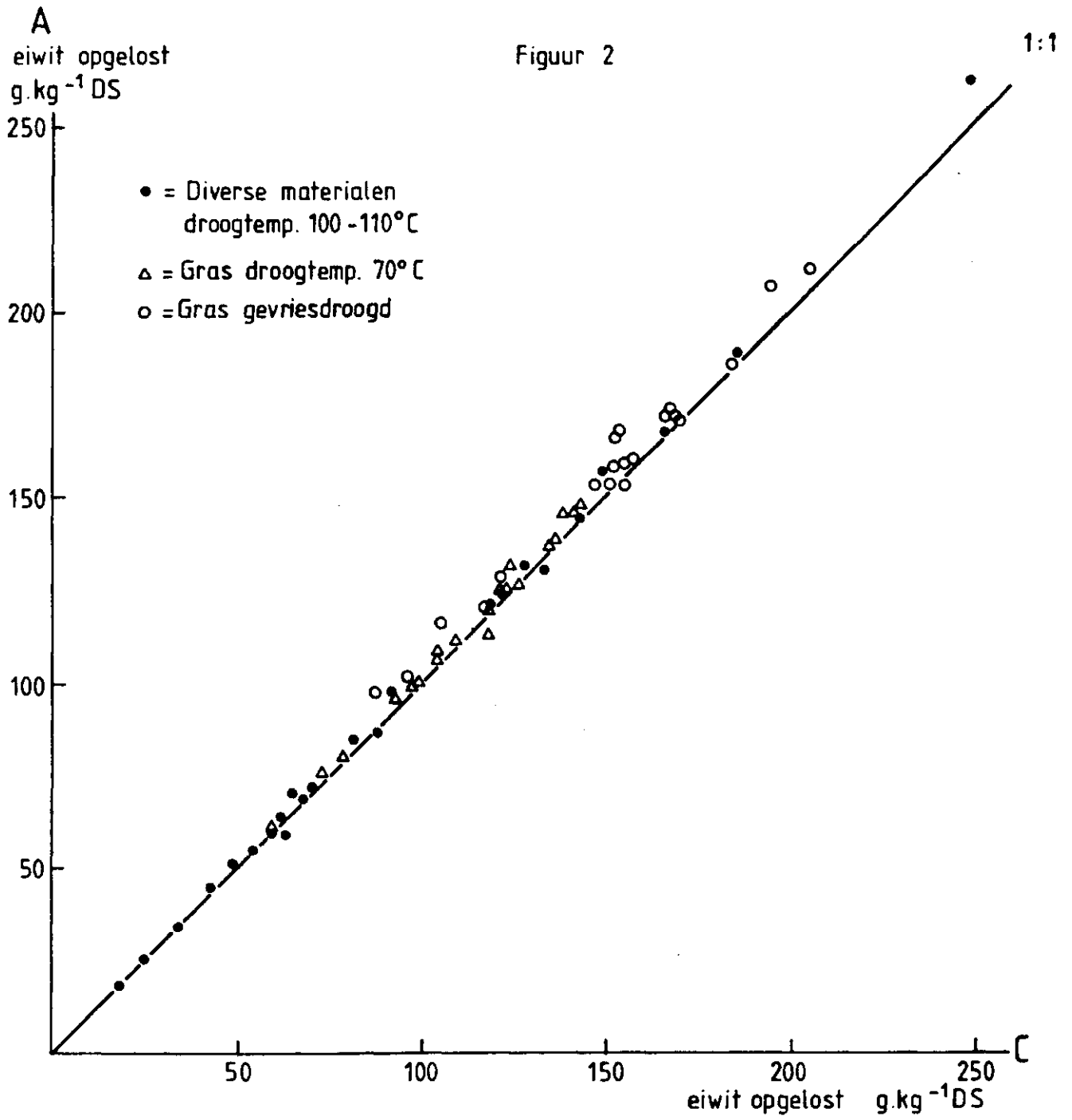
- Albersheim, P. e.a., 1973. The structure of the wall of suspension--cultured sycamore cells. In: Biogenesis of plant cell wall polysaccharides. 117-148. F. Loewus, Ed.,; Academic Press New York-London.
- Bailey, R.W. en D.I.H. Jones, 1971. Pasture quality and ruminant nutrition. III Hydrolysis of ryegrass structural carbohydrates in relation to rumen digestion. New Zealand J. agric. Res. 14, 847-857.
- Bailey R.W. en M.J. Ulyatt, 1970. Pasture quality and ruminant nutrition. II. Carbohydrate and lignin composition of detergent-extracted residues from pasture grasses and legumes, New Zealand J. agric. Res. 13, 591-604.
- Barton, F.E. II, H.E. Amos, D. Burdick en R.L. Wilsen, 1976. Relationship of chemical analysis to in vitro digestibility for selected tropical and temperate grasses. J. Animal Sci. 43, 504-512.
- Bosman, M.S.M., 1967. Methods of predicting herbage digestibility I. Jaarboek I.B.S. 1967, Wageningen, 97-100.
- Bosman, M.S.M., 1970. Methods of predicting herbage digestibility II. Jaarboek I.B.S. 1970, Wageningen 1-15.
- Burke, D., e.a., 1974. The structure of plant cell walls. VI A survey of the walls of suspension cultured monocots. Plant Physiol. 54, 109-115.
- Deinum, B., en P.J. van Soest, 1969. Prediction of forage digestibility from some laboratory procedures. Neth. J. agric. Sci. 17, 119-127.
- Elchazly, M. en B. Thomas, 1976. Ueber eine biochemische Methode zum Bestimmen der Ballaststoffe und ihrer Komponenten in pflanzlichen Lebensmitteln. Z. Lebensm. Unters.-Forsch., 162, 329-340.
- Fonnesbeck, P.V. en L.E. Harris, 1970. Determination of plant cell walls in feeds. Am. Soc. Anim. Sci.; Proc. Western Section 21, 153-161.
- Forage Fiber Analysis, 1970. US. Dept. Agric., Agriculture Handbook 379, 1-10.
- Gaillard, B.D.H., 1966. Calculation of the digestibility for ruminants of roughages from the contents of cell-wall constituents. Neth. J. agric. Sci. 14, 215-223.

- Gaillard, B.D.H. en H.J. Nijkamp, 1968. Calculation of the digestibility for ruminants of roughages from the contents of cell wall constituents. II Time saving methods of analysis. *Neth. J. agric. Sci.* 16, 21-24.
- Hartley, R.D., 1972. p-Coumaric and ferulic acid components of cell walls of ryegrass and their relationships with lignin and digestibility. *J. Sci. Food Agric.* 23, 1347-1354.
- Heath, M.F. en D.H. Northcote, 1971. Glycoprotein of the wall of sycamore tissue culture cells. *Biochem. J.* 125, 953-961.
- Hellendoorn, E.W., M.G. Noordhoff en J. Slagman, 1975. Enzymatic determination of the indigestible residue (Dietary fibre) content of human food. *J. Sci. Food Agric.* 26, 1461-1468.
- Jones, D.I.H. en R.W. Bailey, 1972. The hydrolysis of cell wall polysaccharides from freeze-dried and oven-dried herbage by rumen and mould carbohydrates. *J. Sci. Food Agric.* 23, 609-614.
- Katō, K., 1981. Ultrastructure of the plant cell wall. In: *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series 13*, 29-46 E.W. Tanner and F.A. Loewus, Eds. Springer Verlag, Heidelberg-New York.
- Kirchgessner, M. e.a., 1978. Gehalt und Verdaulichkeit mehrerer Zellfraktionen von Mähweidegras bei verschiedenen Konservierungsverfahren. *Z. Tierphysiol., Tierernährg u. Futtermittelk.* 41, 1-7.
- Kühbauch, W. en G. Voigtländer 1979. Veränderungen des Zellinhaltes, der Zellwandzusammensetzung und der Verdaulichkeit von Knautgras und Luzerne während des Wachstums. *Z. Acker- Pflanzenb.* 148, 455-466.
- Lampert, D.T.A., 1965. The protein component of primary cell walls. *Adv. Bot. Res.* 2, 151-218.
- Lampert, D.T.A., 1980. Structure, biosynthesis and significance of cell wall glyco-proteins. In: *Recent Advances in Phytochemistry*. vol. 11, 79-115. F.A. Loewus and V.C. Runeckles Eds. Plenum Press, New York - London.
- Lampert, D.T.A., 1980a. Cell wall carbohydrates in relation to structure and function. In: *Carbohydrates, structure and function*. 235-243. P.K. Stumpf, et al., Eds. Academic press, New York London.

- Mc Neil, M., A.G. Darvill en P. Albersheim, 1979. The structural polymers of the primary cell wall of dicots. In: Progress in the chemistry of organic natural products (Founded L. Zechmeister) 37 , 192-249. W. Herz et al., Eds. Springer Verlag. Heidelberg-New York.
- Mc Queen, R.E. en J.W.G. Nicholson, 1979. Fiber Analysis. Modification of the neutral-detergent fiber procedure for cereals and vegetables by using α -amylase. JAOAC 62, 676-68.
- Northcote, D.H., 1982. Macromolecular aspects of cell wall differentiation. In: Encyclopedia of Plant Physiology New Series vol 14A. Nucleic acids and proteins in Plants, I. Eds. D. Boulter and B. Partier Springer Verlag Heidelberg-New York, 637-655.
- O'Neill, M.A. en R.R. Selvendran, 1980. Glycoproteins from the cell wall of *Phaseolus coccineus*. Biochem. J. 187, 53-63.
- Preston, R.D., 1979. Polysaccharide conformation and cell wall function. Ann. Rev. Plant Physiol. 30, 55-78.
- Ranfft, K., M. Kirchgessner en F.X. Roth, 1976. Detergentienanalyse zur Bestimmung van Gehalt und Verdaulichkeit in Weidegras. Landwirtsch. Forsch. 29, 124-130.
- Robertson, J.B. en P.J. van Soest, 1977. Dietary fiber estimation in concentrate feedstuffs. J. Animal Sci. 45, suppl. 1, 254.
- Salewski, A., 1970. Zur Voraussage der Verdaulichkeit von Futterpflanzen aus der Analyse der pflanzlichen Zellwand mit Hilfe von Detergenzien. Diss. Agrobiologie Univ. Hohenheim; Stuttgart-Hohenheim, 97 pp.
- Selvendran, R.R., 1975. Analysis of cell wall material from plant tissues: extraction and purification. Phytochemistry 14, 1011-1017.
- Selvendran, R.R., 1975a. Cell wall glycoproteins and polysaccharides of mature runner beans (*Phaseolus coccineus*). Phytochemistry 14, 2169-2174.
- Selvendran, R.R., 1975b. Cell wall glycoproteins of parenchyma of *Phaseolus coccineus*, Phytochemistry. 14, 2175-2180.
- Selvendran, R.R. en M.A. O'Neill, 1981. Plant glycoproteins. In: Encyclopedia of Plant Physiology, New Series 13 A, 515-583; Plant carbohydrates I. W. Loewus en W. Tanner, Eds. Springer Verlag, Heidelberg-New York.
- Smith, D.H., G.C. Marten en R.A. Britton, 1982. Takadiastase enzyme pretreatment for determining cell wall constituents in corn and sorghum silages. Agron. J. 74, 77-80.

- Southgate, D.A.T., 1969. Determination of carbohydrates in foods. II Unavailable carbohydrates. *J. Sci. Food Agric.* 20, 331-335.
- Theander, O. en P. Aman, 1980. Chemical composition of some forages and various residues from feeding value determinations. *J. Sci. Food Agric.* 31, 31-37.
- Tinnimit, P. en J.W. Thomas, 1976. Forage evaluation using various laboratory techniques. *J. Animal. Sci.* 43, 1058-1065.
- Van Soest, P.J., 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low N content. *JAOAC* 46, 825-829.
- Van Soest, P.J., 1963a. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II Rapid method for the determination of fiber and lignin. *JAOAC* 46, 829-835.
- Van Soest, P.J., 1966. Feeds. Non nutritive residues: a system of analysis for the replacement of crude fiber. *JAOAC*, 49, 546-551.
- Van Soest, P.J. en J.B. Robertson, 1977. What is fibre and fibre in food. *Nutr. Rev.* 35, 12-22.
- Van Soest, P.J. en J.B. Robertson, 1980. Systems of analysis for evaluating fibrous feeds. In: Standardization of analytical methodology for feeds, 49-60. Workshop Ottawa, 1979. Ed. W.J. Pigden e.a. IDRC-134e, Canada
- Van Soest, P.J. en R.H. Wine 1967: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds IV Determination of plant cell wall constituents. *JAOAC* 50. 50-55.
- Waite, R., 1970. The structural carbohydrates and the in vitro digestibility of a ryegrass and a cocksfoot at two levels of nitrogenous fertilizer. *J. agric. Sci. Camb.*, 74, 457-462.
- Waite, R., en A.R.N. Gorrod, 1959. The comprehensive analysis of grasses. *J. Sci. Food Agric.* 10, 317-326.





Lijst van gebruikte termen en afkortingen in dit verslag en in de aangehaalde literatuur.

| | |
|--------------------------|---|
| ADF | acid detergent fibre = ADR |
| ADR | acid detergent residue |
| CC | cell contents; celinhoud |
| CF | crude fibre; ruwe celstof |
| CP | crude protein; ruw eiwit |
| CTAB | cetyltrimethylammoniumbromide |
| CV | variatiecoëfficiënt ($\frac{s}{\text{gem.}} \times 100$) |
| CW | cell wall; cellwand |
| CWC | cell wall constituents; celwandbestanddelen |
| CWM | cell wall matter; celwandmateriaal |
| dekaline | = dekahydronaftaleen |
| DF | dietary fibre; voedingsvezel |
| DOM | digestible organic matter; verteerbare organische stof, VOS |
| DS | droge stof; in dit verslag steeds als absolute droge stof berekend uit luchtdroge stof x $\frac{100 - \% \text{ vocht}}{100}$ |
| EDTA | dinatriumethyleendiaminetetraacetaat = Komplexon III |
| IDVMD | in vitro dry matter disappearance: droge stof opgelost bij "in vitro" bepaling |
| "in vitro" | verteerbaarheid: verteerbaarheid bepaald door incubatie met pensvocht. |
| "in vivo" | verteerbaarheid: bepaald met dierproeven. |
| Komplexon, Komplexon III | = EDTA |
| ND | neutrale detergent |
| NDF | neutral detergent fibre = NDR |
| NDR | neutral detergent residue (meestal inclusief de niet opgeloste as) |
| NDS | natriumdodecylsulfaat = NLS |
| NFE | nitrogenfree extract: extract, exclusief eiwit in dit extract |
| NLS | natriumlaurylsulfaat |
| OM | organic matter; organische droge stof |
| r | correlatiecoëfficiënt |
| RC | ruwe celstof |
| s | standaardafwijking |
| SLS | sodiumlaurylsulfaat = NLS |
| VOS | verteerbare organische stof = DOM |