

Afdeling Algemene Chemie 1986-02-23

RAPPORT 86.20 Pr.nr. 505.6050

Onderwerp: Oriënterend onderzoek naar de
mogelijkheden om NIRA te be-
trekken bij het onderzoek naar
een objektieve meetmethode voor
de meligheid van doperwten.

Verzendlijst: directeur, directie VKA, directeur Sprenger Instituut,
Schouten (SI), Schijvens (SI), directie AT, Miedema
(CAD KW), afdeling Sensoriek, V.d. Worp, sektorhoofd,
afdeling Algemene Chemie (5x), bibliotheek (2x), pro-
jektbeheer, circulatie.

Project: Ontwikkeling methoden van onderzoek van voedings- en voeder-
middelen met behulp van NIRA.

Onderwerp: Oriënterend onderzoek naar de mogelijkheden om NIRA te be-
trekken bij het onderzoek naar een objectieve meetmethode
voor de meligheid van doperwten.

Doel:

Nagaan wat de mogelijkheden zijn om NIRA te betrekken bij het onder-
zoek naar een objectieve meetmethode voor de meligheid van doperwten.

Samenvatting:

Er bestaat behoefte aan een objectieve meetmethode voor de meligheid
van verduurzaamde doperwten. In het verleden werd aangenomen dat het
gehalte aan alcohol onoplosbare bestanddelen hiervoor de meest ge-
schikte parameter zou zijn.

Het Sprenger Instituut wil in een uitgebreid onderzoek een groot aan-
tal parameters bestuderen en correleren aan de sensorisch vast te
stellen meligheid. Om na te gaan of het zinvol is om ook NIRA te be-
trekken bij dit onderzoek zijn van 20 monsters verduurzaamde doperwten
met bekende AIS-gehalten berekeningen uitgevoerd tussen de reflectie-
waarden bij 350 verschillende golflengten en de AIS-gehalten.

Conclusie:

NIRA biedt goede mogelijkheden om snel het AIS-gehalte van gemalen
verduurzaamde doperwten te bepalen; bij gebruik van 2 à 3 golflengten
ligt de correlatiecoëfficiënt tussen de NIR-meting en de chemisch be-
paalde AIS-gehalten boven 0,9, terwijl de standaarddeviatie van de
verschillen op slechts 1% absoluut ligt.

Gelet op deze vaststelling en de aanname uit het verleden, dat het
AIS-gehalte de meest geschikte parameter zou zijn voor de meligheid
van doperwten, is het gerechtvaardigd om NIRA te betrekken bij het
verdere onderzoek naar een objectieve meetmethode voor de meligheid
van doperwten.

Verantwoordelijk : drs N.G. van der Veen *AD*
Medewerker/samensteller: R. Frankhuizen, H.H.M van de Worp
Projectleider : R. Frankhuizen *JK*

1. Inleiding

Vanuit de industrie is de behoefte geuit om te komen tot een aanvullend kwaliteitscriterium voor de meligheid van verduurzaamde doperwten, waarbij het de bedoeling is om dit kwaliteitscriterium te controleren met behulp van een objectieve meetmethode.

Sinds een groot aantal jaren wordt aangenomen, dat het gehalte aan alcohol onoplosbare bestanddelen (AIS) de meest geschikte parameter is voor de meligheid van doperwten (1). Bij de bepaling van het juiste oogsttijdstip voor doperwten wordt dan ook de Tenderometer-waarde bepaald, welke verondersteld wordt te correleren met de rijpheid van de doperwten en het AIS-gehalte.

In 1983 is door het Sprenger Instituut een onderzoek uitgevoerd naar de relatie tussen de Tenderometer-waarde en het AIS-gehalte (2). Het blijkt dat er een redelijke correlatie bestaat tussen de Tenderometer-waarde en het AIS-gehalte, maar dat de correlatie met de sensorische meligheid niet zo hoog is.

Uit een eerder door het RIKILT uitgevoerd onderzoek komt eveneens niet duidelijk naar voren, dat er een grote correlatie aanwezig is tussen het AIS-gehalte en de sensorische meligheid (3).

In een vervolgonderzoek wil het Sprenger Instituut dan ook een groot aantal parameters bekijken, om te achterhalen welke parameter(s) het beste correleert met de sensorisch te ervaren meligheid. Naast de bepaling van de Tenderometermeter-waarde en het AIS-gehalte zullen een aantal fysische parameters worden bepaald zoals hardheid, veerkracht, vervormbaarheid, vochtverlies. De verkregen onderzoekresultaten zullen worden vergeleken met de resultaten van een sensorische beoordeling van de monsters.

Het in dit rapport beschreven oriënterend onderzoek heeft tot doel om na te gaan of het zinvol is om ook Nabij Infrarood Reflectie Analyse (NIRA) bij dit onderzoek te betrekken. NIRA is namelijk een onderzoekstechniek, waarmee zeer snel en (nauwelijks) zonder monstervoorbereiding, gehalten aan componenten in produkten kunnen worden vastgesteld. Aangezien het AIS-gehalte op dit moment de enige beschikbare parameter is die goed objectief te bepalen is, is onderzocht of met de Infra Alyzer-500 dit gehalte voldoende nauwkeurig is te bepalen.

2. Materiaal en methoden

2.1 Monsters

In de periode oktober t/m december 1983 zijn in het kader van vergelijkend warenonderzoek door de Consumentenbond 24 monsters doperwten verzameld en o.a. onderzocht op het AIS-gehalte. 20 van deze in glas of blik verpakte monsters zijn bewaard en in november 1985 gebruikt voor het hier beschreven onderzoek.

2.2 Chemische analyse en monstervoorbehandeling

Het AIS-gehalte van de monsters werd bepaald volgens Intern Analysevoorschrift 71 D 152. De doperwten werden gescheiden van de opgiets volgens de methode voor de bepaling van het uitlekgewicht zoals beschreven in bijlage II van de Verordening PGF 1978 Opgeweekte peulvruchten.

De erwten werden vervolgens gemalen m.b.v. de Ika-Universalmühle M20, waarna met behulp van een spatel een open monstercup van de Infra Alyzer gevuld en afgestreken werd.

2.3 Apparatuur

De NIR-apparatuur bestond uit een Technicon Infra Alyzer-500 (IA-500), gekoppeld aan een HP-1000 minicomputer. Dit instrument is een computer-gestuurde spectrofotometer, uitgerust met een monochromator met behulp waarvan spectra werden opgenomen over een golflengtegebied van 1100-2500 nm. Hierbij werd om de 4 nm de reflectie gemeten.

Voor een meer uitgebreide beschrijving van deze apparatuur en het gebruik in de praktijk wordt verwezen naar het "Operation Manual" van de Infra Alyzer-500 (7).

2.4 NIR-analyse

Alle monsters werden, bij gebruik van een open cup, in 3-voud ingelezen. De gemiddelde reflectiewaarden van de drie metingen verkregen bij gebruik van 350 golflengten werden opgeslagen op een "fixed hard disc" in de $\log 1/R$ (R = reflectie) vorm.

Met behulp van een "multipiele lineaire regressie" programma (programma: "all combination search") werden golflengten geselecteerd en calibratiefactoren berekend die in combinatie de hoogste multipiele correlatiecoëfficiënt (R) en de laagste standaardafwijking van de verschillen gaven (SEE = standard error of estimate) tussen de NIR-waarden en de chemische bepaalde AIS-gehalten. Tevens werd nagegaan of met 1e of 2e afgeleide spectra betere resultaten verkregen kunnen worden.

3. Oriënterend onderzoek voorbehandeling monsters

Nadat de erwten - door de monsters eerst 2 min. op een zeef van 2,8 mm uit te laten lekken - gescheiden waren van de opgieter, zijn een aantal monstermetingen verricht, aan:

- 1) erwten ongemalen
- 2) erwten gemalen m.b.v. een Ika-Universalmühle M20
- 3) erwten gezeefd m.b.v. een appelmoeszeef
- 4) erwten ongemalen met een ondergrond van gemalen erwten
- 5) erwten gemalen m.b.v. een Moulinette.

In figuur 1 zijn de 5 NIR-spectra van een monster doperwten, voorbehandeld volgens de hierboven genoemde methoden, weergegeven.

3.1 Erwten ongemalen

Hoewel de voorkeur uitgaat naar een rechtstreekse meting aan ongemalen erwten, kleven hieraan een aantal bezwaren, te weten:

- Kleine verschillen van vocht op de zaad huid, veroorzaakt door de uitlekprocedure, kunnen grote verschillen in reflectie veroorzaken;
- de intensiteit van de lichtbron is onvoldoende om diep in te erwt door te dringen. Daar de zaad huid qua AIS-gehalte kan verschillen met de zaadlob zal waarschijnlijk geen hoge correlatie gevonden worden tussen gereflecteerd licht en AIS-gehalten;
- door de monstercup te "pakken" met hele erwten ontstaat er ruimte tussen de erwten. Hierdoor zal een gedeelte van het licht de erwten passeren zonder dat deze aangestraald worden en geheel geabsorbeerd worden door de zwarte kunststofbodem van de monstercup. Dit veroorzaakt een hoog absorptieniveau (2.4 abs.) welke afhankelijk is van de "pakking" van de erwten in de monstercup. Bovendien is het aan te stralen oppervlak van de bovenlaag erg onregelmatig, waardoor de reflektiemetingen weinig reproduceerbaar zullen zijn.

3.2 Erwten gemalen m.b.v. een Ika-Universalmühle M20

Met behulp van deze molen is de erwt redelijk goed te vermalen. De hierbij deels vermaalde zaadhuidjes zijn homogeen verdeeld over het monster.

3.3 Erwten gezeefd m.b.v. een appelmoeszeef

Met behulp van een appelmoeszeef (0.5 mm) is de zaadhuid vrij goed te scheiden van de zaadlob. Hierdoor verkrijgt men een mooi homogeen produkt waarmee de monstercup goed gepakt kan worden.

De vraag blijft echter of als regel het AIS-gehalte bepaald moet worden van de hele erwt. Is dit het geval, dan dient de meting ook aan het gehele produkt verricht te worden.

3.4 Erwten ongemalen met een ondergrond van gemalen erwten

Hoewel het probleem van de "lege ruimten" en het hoge absorptieniveau door het werken met een ondergrond van gemalen erwten in de monstercup deels opgelost wordt, blijken de nadelen zoals vochtverschillen en te kort aan lichtintensiteit zoals genoemd onder 3.1 ook voor deze meetmethode van kracht.

3.5 Erwten gemalen m.b.v. een Moulinette

Met behulp van deze molen worden de zaadhuidjes van de erwt onvoldoende verkleind en gemengd over het hele produkt. Dit is nadelig voor de NIR-meting.

3.6 Conclusie monstervoorbehandeling

Met de beperkte lichtintensiteit en het ontbreken van de mogelijkheid transmissiemetingen uit te voeren lijkt het weinig zinvol metingen te verrichten aan hele erwten (niet destructief). Voor een destructieve meting heeft de Ika-Universalmühle M20 voorkeur boven een Moulinette. De herhaalbaarheidsmetingen en de correlatiemetingen zijn dan ook uitgevoerd in het hele produkt, gemalen m.b.v. Ika M20 molen.

4. Herhaalbaarheid

In tabel 1 en figuur 2 is de maximale spreiding (spreidingsbreedte) opgenomen van 10 metingen en uitgedrukt als procenten van de maximale absorptierange.

De standaarddeviatie S_c ten gevolge van het vullen van de cup is gelijk aan de spreidingsbreedte $\times 0,325$ (4). De resultaten verkregen met het 1e en 2e afgeleide spectrum zijn slechter dan die verkregen met het oorspronkelijke spectrum (tabel 1 en figuur 3 en 4).

Indien voor een nauwkeurige meting in drievoud wordt gemeten (dat wil zeggen 3 maal opnieuw de monstercup vullen), dan bedraagt de standaardafwijking van het gemiddelde van 3 metingen $1/3 S_c = 1/3 (5.2 \times 0.325) = 0,6\%$, hetgeen acceptabel is.

Tabel 1: Maximale spreiding (in millilog absorbance) van 10 metingen uitgedrukt in procenten van de maximale absorptierange voor erwten.

Data	hele erwt, gemalen open cup
log 1/R	$\frac{110}{2100} \times 100\% = 5,2\%$
1e afgeleide	$\frac{44}{350} \times 100\% = 12,6\%$
2e afgeleide	$\frac{54}{620} \times 100\% = 8,7\%$

5. Resultaten calibratieberekeningen

Met de data verkregen door 20 monsters (tabel 3) gemalen doperwten in 3-voud in te lezen en te middelen zijn een aantal correlatieberekeningen uitgevoerd waarvan de resultaten vermeld staan in tabel 2.

Tabel 2: Nabij infrarood reflectie-gegevens van het gehalte aan AIS in 20 monsters gemalen doperwt.

Rekenwijze	Geselekteerde golflengten				r	SEE
Step-up	1520	1400			0,78	1,8
Step-up/best-pair	2112	2300			0,88	1,3
Step-up/1e afgeleide	2416	2480	2212		0,91	1,3
Step-up/2e afgeleide	1224	1658			0,81	1,7
Combination Search	2052	2388			0,86	1,5
Combination Search	2052	2388	2430		0,93	1,1
Step-up/best-pair	2112	2284	2436	1472	0,99	0,5
	2348	1476	2280			

λ = golflengte in nm
 r = multiële correlatiecoëfficiënt
 SEE = standaard error of estimate

In figuur 5 is het correlatiediagram weergegeven van de absorptie bij 350 golflengten versus het AIS-gehalte van de 20 monsters gemalen doperwt.

Hoge lineaire correlaties komen voor rond de 1500 nm en de 2250 nm.

Bij deze golflengten absorberen o.a. de eerste boventoon van de O-H rek-vibratie (5) resp. de O-H rek-/O-H buigvibratie (6) van zetmeel.

Het is echter moeilijk aan te geven met welke rekenwijze de meest betrouwbare (specifieke) resultaten verkregen kunnen worden. Een testset met onbekende monsters kan hier uitsluitel over geven.

Verder dient opgemerkt te worden dat de step-up berekening met 7 golflengten welliswaar een zeer hoge correlatie laat zien en een lage SEE (tabel 2), maar dat het aantal variabelen voor een dergelijke monster-set ($n=20$) wel groot is.

Figuur 6 geeft het verband tussen de AIS-gehalten bepaald m.b.v. de referentiemethode en voorspeld m.b.v. NIRA (combination search 3λ).

Figuur 7 geeft een frequentieverdeling van de AIS-gehalten.

6. Conclusie

- Met de beperkte lichtintensiteit van de stralingsbron en het ontbreken van de mogelijkheid transmissiemetingen uit te voeren lijkt het weinig zinvol NIR-metingen te verrichten aan hele erwten (niet destructief).
- De bepaling van het AIS-gehalte van het gemalen produkt biedt goede mogelijkheden. Dit kan bij gebruik van 2 à 3 golflengten met een correlatiecoëfficiënt van tenminste 0,9 en een standaard error of estimate van ca. 1%.
- De correlatie tussen de reflectiewaarden en de AIS-gehalten van de monsters lijkt in belangrijke mate toegeschreven te kunnen worden aan de gehalten van water en zetmeel en/of de relatie hier tussen.
- Gelet op bovengenoemde vaststellingen en de aanname uit het verleden, dat het AIS-gehalte de meest geschikte parameter zou zijn voor de meligheid van doperwten, is het gerechtvaardigd om NIRA te betrekken bij het verdere onderzoek naar een objectieve meetmethode voor de meligheid van doperwten.

Literatuur

1. Sprenger Instituut-rapport no. 2247, M.A. van der Meer. Het AIS-gehalte als rijpheidsparameter van groenten en fruit in het algemeen en van doperwten in het bijzonder.
2. Sprenger Instituut-rapport no. 2262, F.J. Westerling en L.P.H.M. Schijvens. AIS-onderzoek Doperwten 1983: Waarnemingen van 4 fabrieken en het Sprenger Instituut m.b.t. AIS-gehalte, TM-waarde en meligheid.
3. RIKILT-rapport no. 84.74. Chemisch en sensorisch onderzoek naar de kwaliteit van verduurzaamde doperwten en doperwten en wortelen.
4. NEN 1047
Berekening van de standaardafwijking uit de spreidingsbreedte, Dec. 1967.
5. D.P. Law and R. Tkachuk, Gereel Chem. 1977, 54, 256.
6. B.G. Osborne, S. Douglas, T. Fearn, J. Sci. Fd. Agric. 1981, 32, 200.
7. Operation Manual Technicon Infra Alyzer-500 Publication no. TA 8 - 2512-00.

File name DCERWT.B
 File date 1:39 PM TUE., 5 NOV., 1985
 File ID ORIENTEREND ONDERZOEK MONSTERVEROORBEREIDING
 Listing of parameters

Sample #	Sample ID
1.00	ONGEMALEN
2.00	HEEL,GEMALEN
3.00	LOB,GEZEEFD
4.00	HEEL+ONDERGR
5.00	MOULINETTE

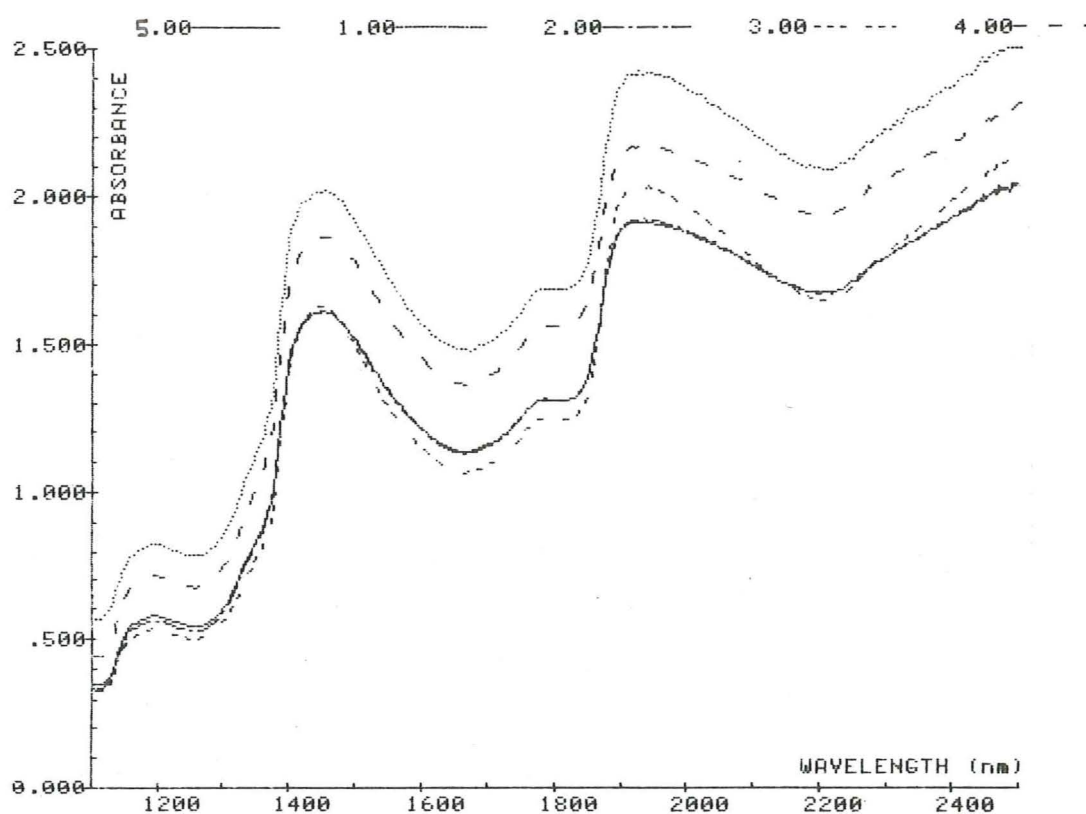


Fig.1 NIR-spectra van één monster doperwten voorbehandeld volgens 5 verschillende methoden.

DCERWH,B
12:10 PM WED., 6 NOV., 1985
HERHAALBAARHEID ERWTEN, 6-11-1985

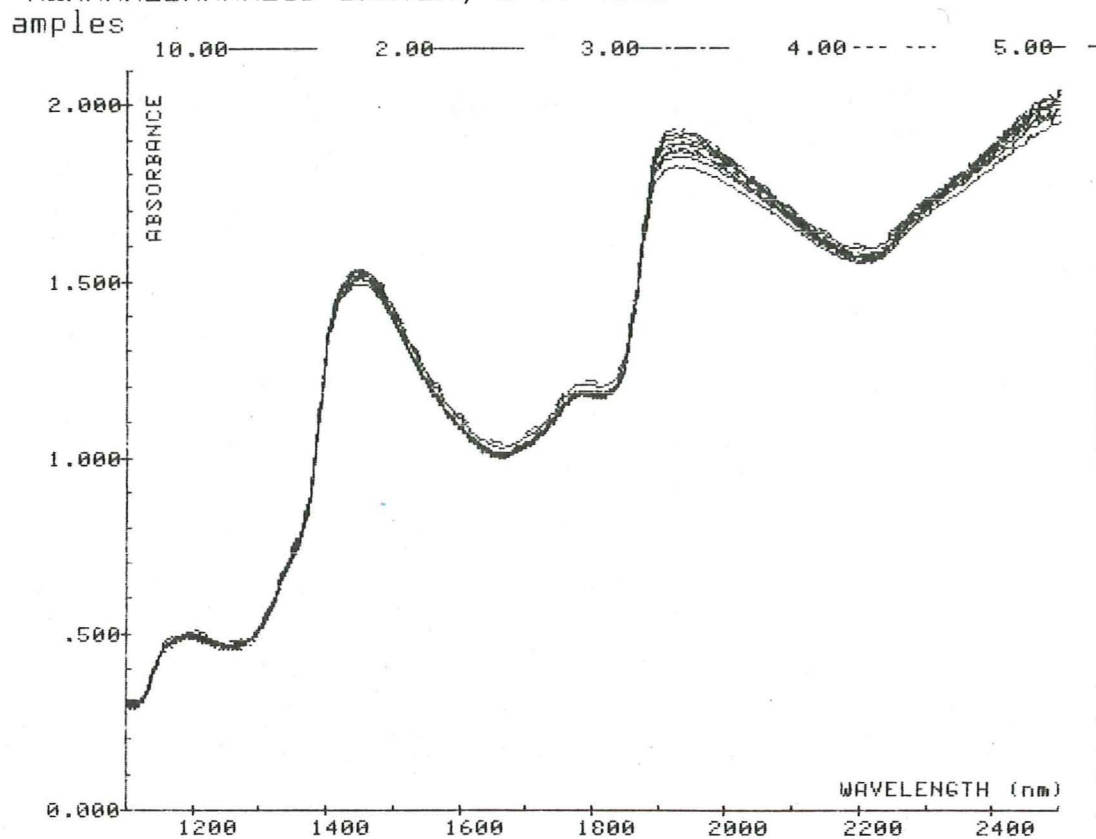


Fig.2 10 NIR-spectra van een monster gemalen doperwt
gemeten in een open cup.

File name DMERWH,B
 File date 1:23 PM WED., 6 NOV., 1985
 File ID HERHAALBAARHEID ERWTEN, 6-11-1985
 Graph of samples

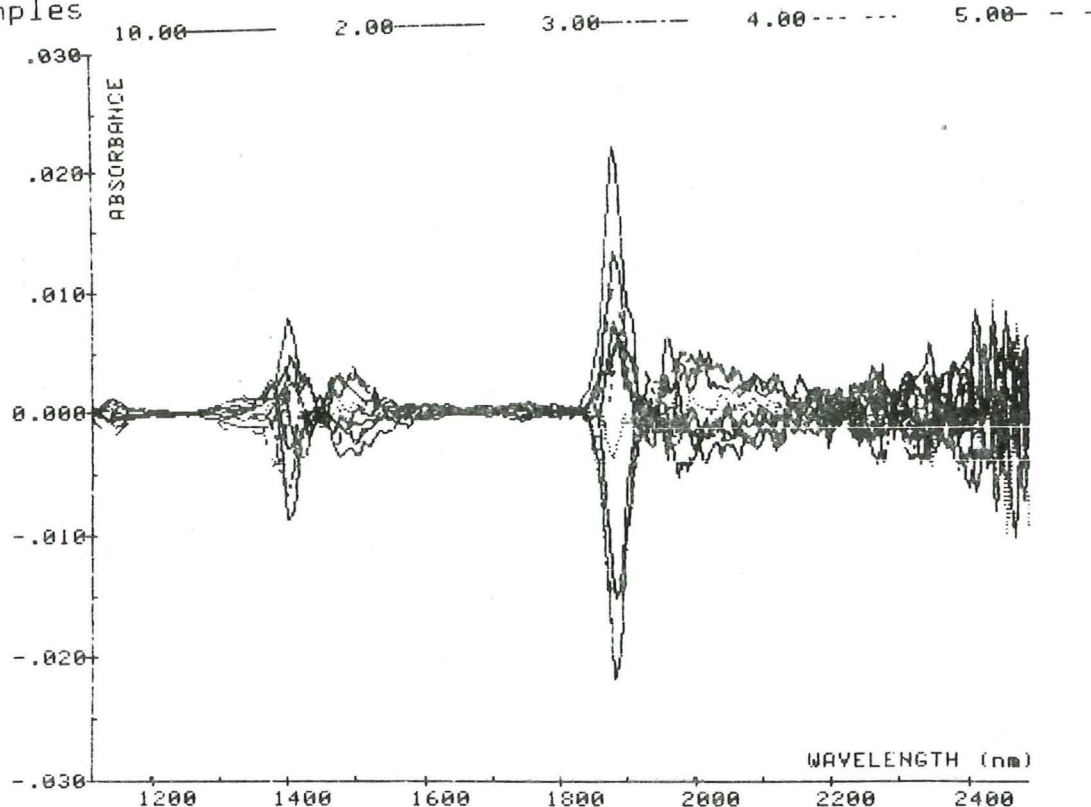


Fig.3 Spreiding in de 1^e afgeleide spectra bij 10 maal
 opnieuw vullen van een open monstercup met gemalen doperwt.

File name DMERWH,B
 File date 1:23 PM WED., 6 NOV., 1985
 File ID HERHAALBAARHEID ERWTEN, 6-11-1985
 Graph of samples

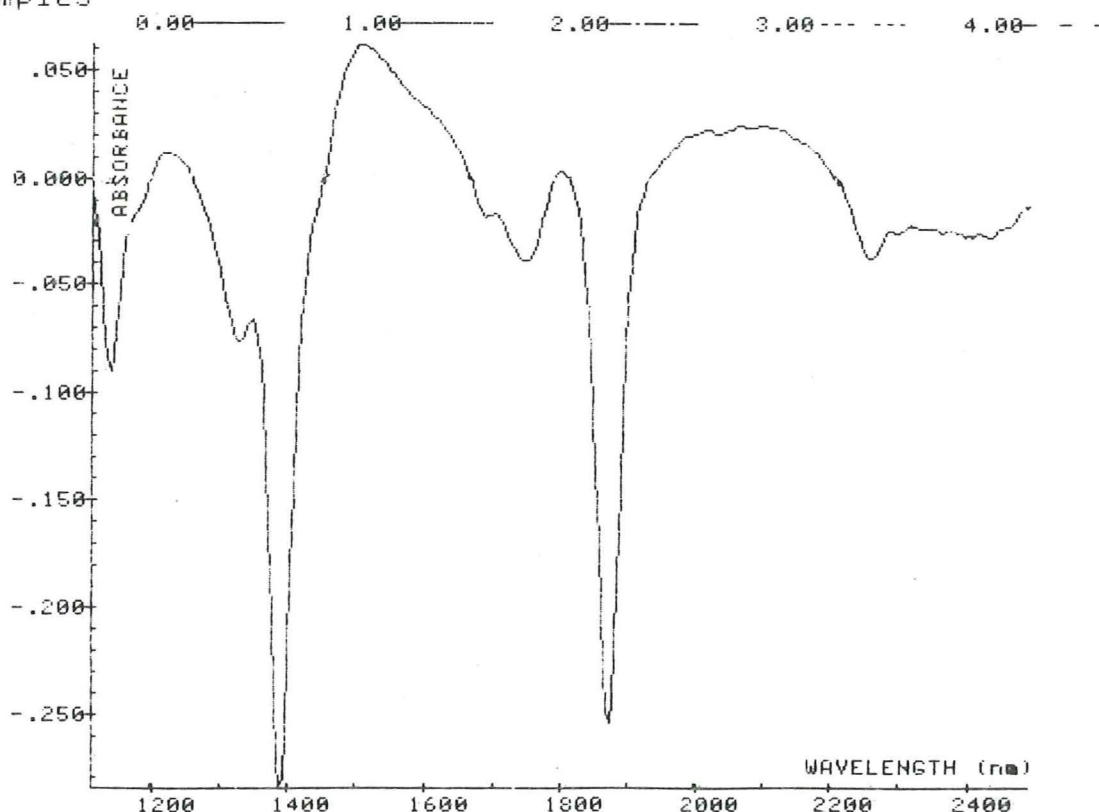


Fig.3a 1^e afgeleide NIR-spectrum van gemalen doperwt.

File name DTERWH,B
 File date 1:41 PM WED., 6 NOV., 1985
 File ID HERHAALBAARHEID ERWTEN, 6-11-1985
 Graph of samples

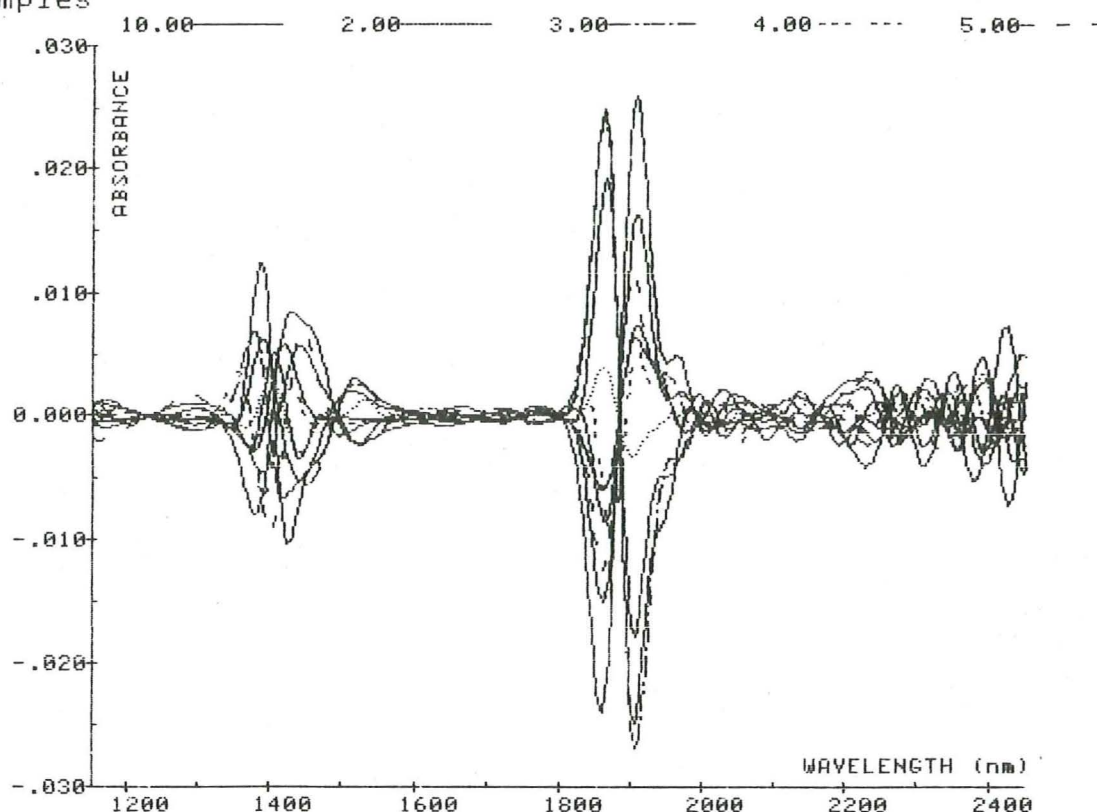


Fig.4 Spreiding in de 2^e NIR-afgeleide spectra bij 10 maal

File name DTERWH,B opnieuw vullen van een open monstercup met gemalen doperwt.
 File date 1:41 PM WED., 6 NOV., 1985
 File ID HERHAALBAARHEID ERWTEN, 6-11-1985
 Graph of samples

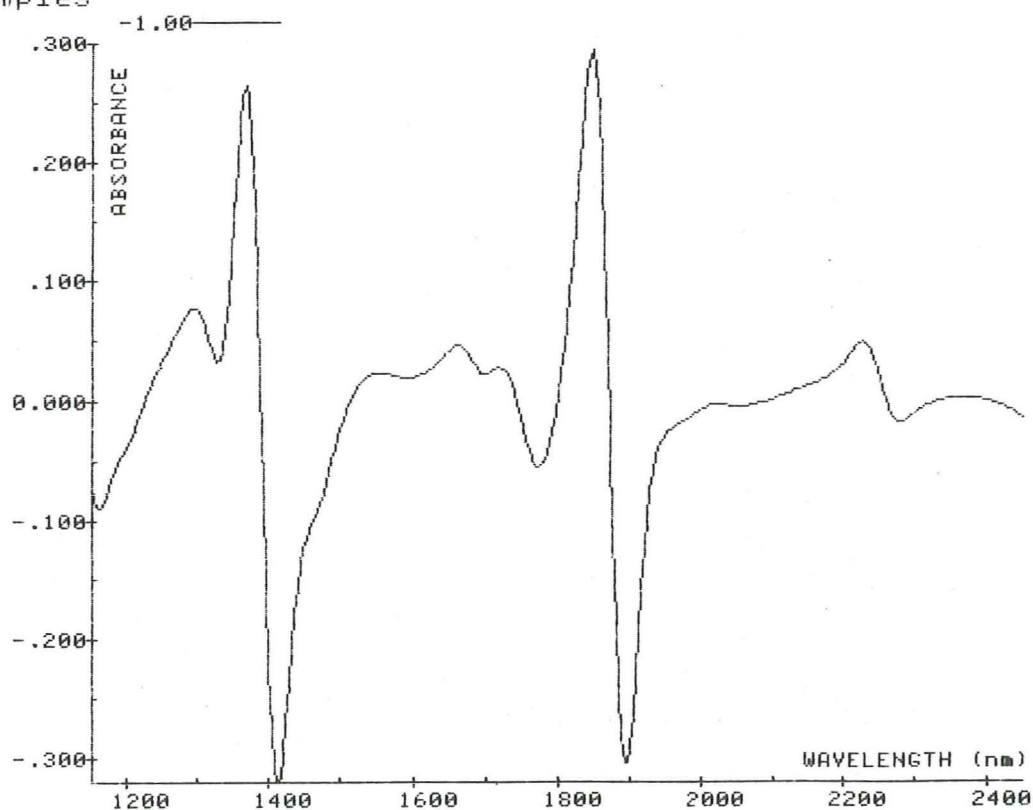


Fig.4a 2^e afgeleide NIR-spectrum van gemalen doperwt.

File name COAIS1.C
File date 10:13 AM TUE., 12 NOV., 1985
File ID
Graph of samples

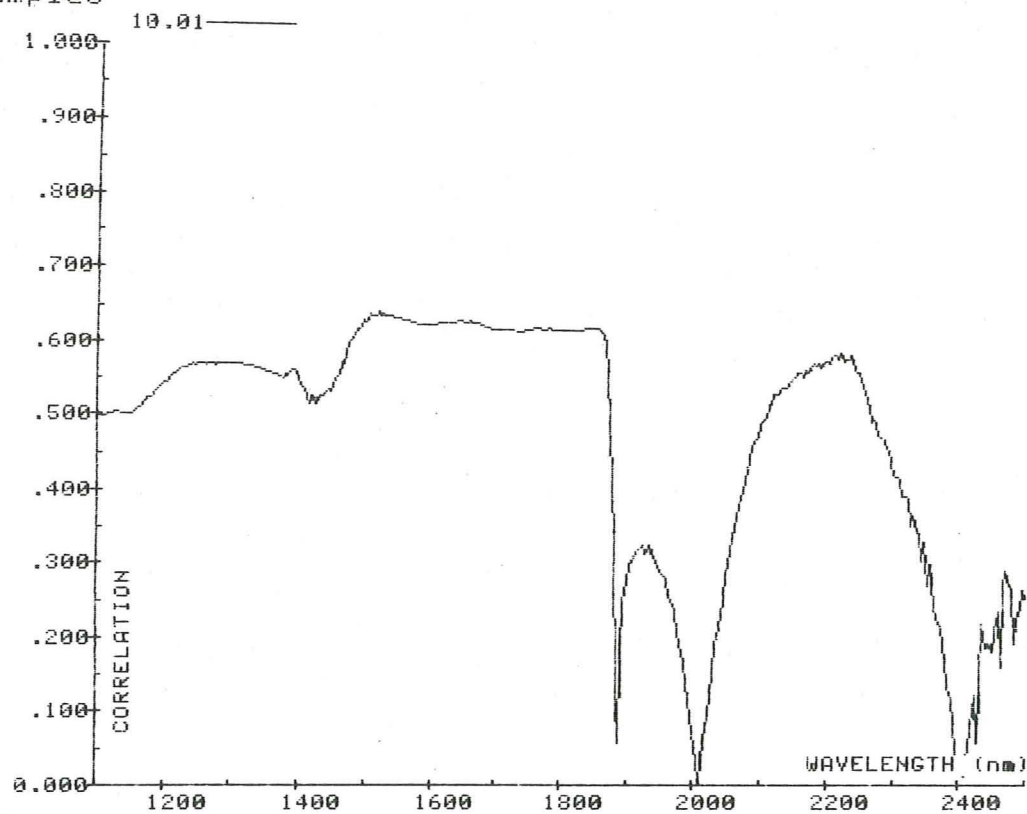


Fig.5 Correlatie diagram AIS-gehalte versus absorptie
bij 350 golflengten.

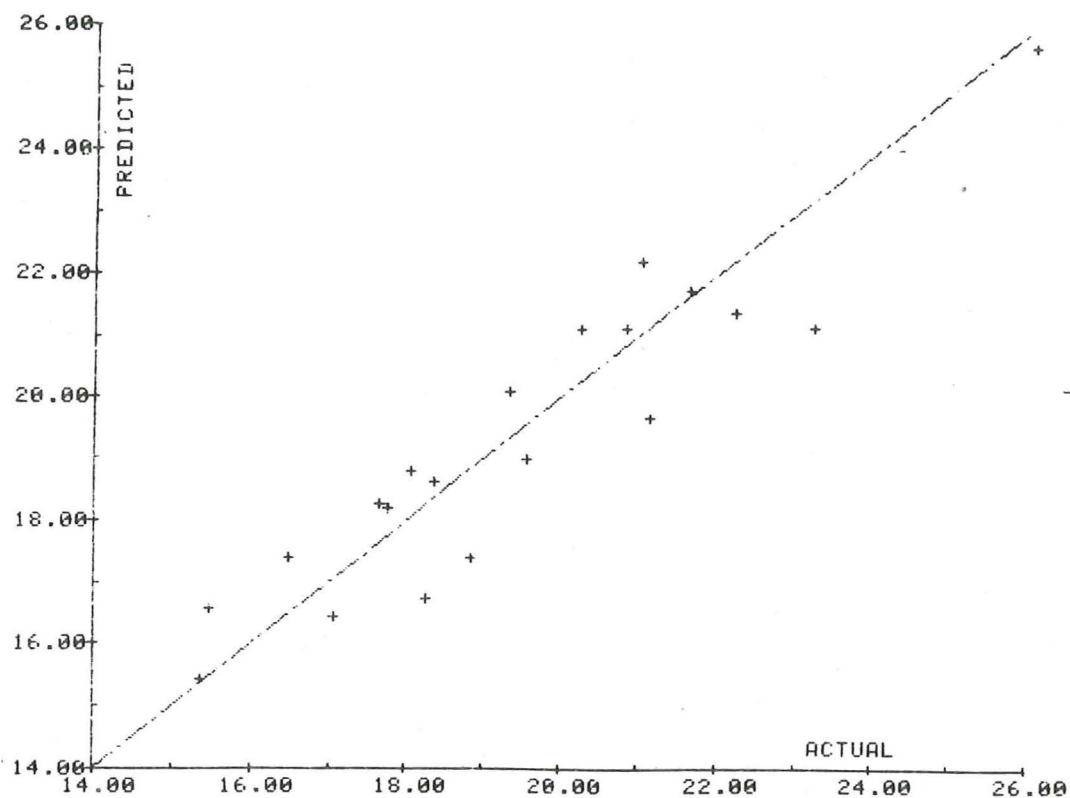


Fig.6 verband tussen de A.I.S-gehalten bepaald m.b.v de referentiemethode en de A.I.S-gehalten voorspeld met NIRA.

Constituent : % AIS Data File : DCAIS1,C Equation File : EQAIS1,C
 HISTOGRAM PLOT
 20 of 20 samples included

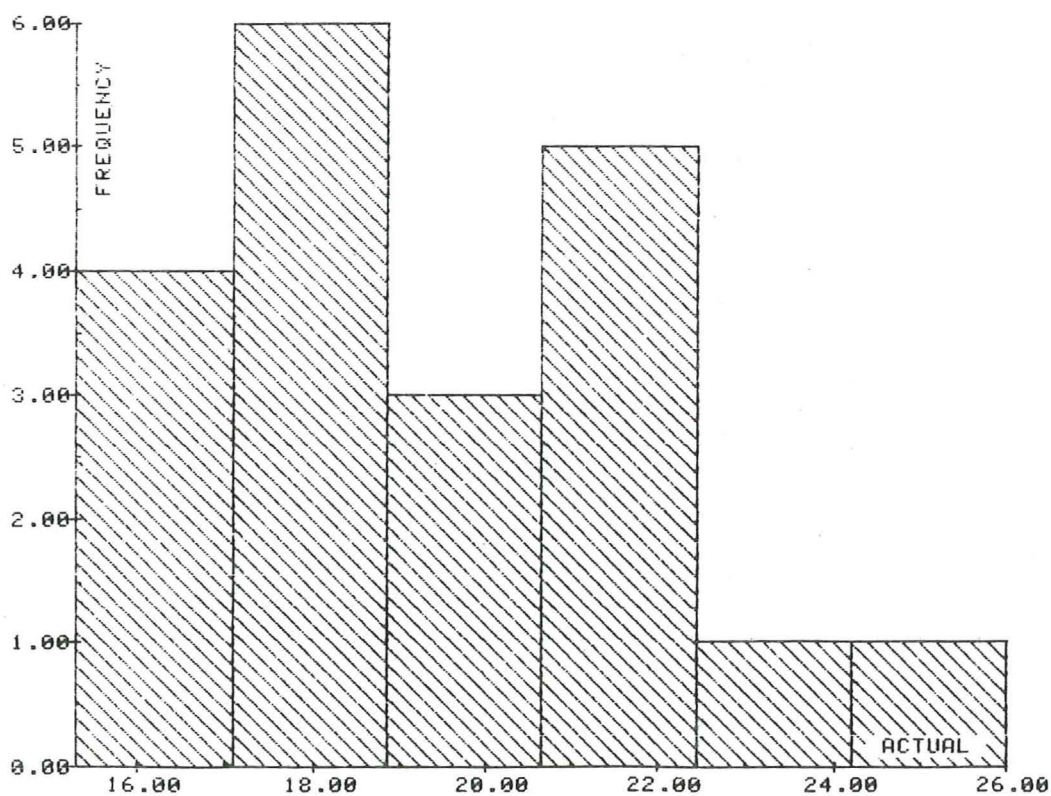


Fig.7 frequentie verdeling van calibratiemonsters op A.I.S-gehalte.

File name DCAIS1.C
File date 12:18 PM THU., 7 NOV., 1985
File ID ERWTEN, 6-11-1985, %AIS
Listing of parameters

Sample #	Sample ID	% AIS
1.00	47841	15.300
2.00	47855	15.400
3.00	47834	16.400
4.00	47829	17.000
5.00	47853	17.600
6.00	47849	17.700
7.00	47837	26.000
8.00	47845	18.200
9.00	47825	18.300
10.00	47823	18.800
11.00	47851	19.300
12.00	47858	19.500
13.00	47840	20.200
14.00	47833	20.800
15.00	47831	21.000
16.00	47857	21.100
17.00	47843	21.600
18.00	47821	22.200
19.00	47827	23.200
20.00	47847	18.000

_This listing contains _20 samples

**Tabel.3 Perc. AIS van de 20 monsters gemalen doperwt
gebruikt voor de correlatie berekeningen
(range % AIS 15.3-26.0).**