

Methoden voor de karakterisering van de grondstof Aardappel

P.C.M. van Eijck
J. Oosterhaven
E.S.A. Biekman
A. Braaksma
T. Timmermans e.a.

Vertrouwelijk

ato-dlo





ATO-DLO

Methoden voor de karakterisering van de grondstof Aardappel

VERTROUWELIJK

Januari 1998

**Agrotechnologisch
Onderzoek Instituut
(ATO-DLO)**
Bornsesteeg 59
Postbus 17
6700 AA Wageningen
tel. 0317 -475000
fax. 0317 -475347

P.C.M. van Eijck
J. Oosterhaven
E.S.A. Biekman
A. Braaksma
T. Timmermans
en vele anderen

Eigendom van ATO-DLO. Niets uit dit document mag worden gebruikt, vermeerderd of gedistribueerd zonder schriftelijke toestemming van ATO-DLO.

2251654

Inhoudsopgave

Pagina

Inleiding	4
Vorbewerking door middel van vriesdrogen	5
101. Bepaling gemiddeld onderwatergewicht en afleiding droge-stofgehalte	6
102. Bepaling gemiddeld droge-stofgehalte in rauwe aardappelen	7
103. Bepaling verdeling soortelijk gewicht tussen aardappelen	8
104. Bepaling verdeling soortelijk gewicht binnen aardappelen	10
105. Bepaling van het vochtgehalte van rauwe, geblancheerde en gekookte aardappels d.m.v. een NMR meting	11
106 ^a . Bepaling van het gehalte van de belangrijkste componenten in rauwe, geblancheerde en gekookte aardappelen d.m.v. een NIT meting	13
106 ^b . Bepaling van de aanwezigheid en toestand van water en droge-stofgehalte met behulp van infraroodspectroscopie (IRS)	15
107. Bepaling zetmeelgehalte	16
108. Microscopische bepaling vorm en grootte van zetmeelkorrels	18
109. Bepaling van pH en bufferende capaciteit.	19
110. Ionanalyse	20
111. Bepaling calcium (locatiegebonden)	21
112. Bepaling van organische zuren	22
113. Bepaling kleurindex	23
114. Bepaling van het glucosegehalte	25
115. Bepaling fructosegehalte	25
116. Bepaling sucrosegehalte	25
117. Bepaling van de celwandsamenstelling en totaal fenolen	27
118. Bepaling van chlorogeenzuur, ascorbinezuur en organische zuren	30
119. Bepaling van oplosbaar eiwit, vrije aminozuren en totaal stikstofgehalte	41
120. Bepaling van de gevoeligheid van aardappelweefsel voor pyrofosfaat	42
200. Structuur; vorm en grootte van cellen; microscopische bepaling	43
201. Structuur; vorm en grootte van cellen; bepaling celgrootte en maceratiesnelheid	44
202. Stevigheid; Instron shear	46
203. Stevigheid; bepaling uniaxiale compressie aan rauwe aardappel	47
204. Stevigheid; bepaling hardheid	48
205. Stevigheid; bepaling van breukenergie	49
206. Diffusie/permeabiliteit; bepaling doorlaatbaarheid van aardappelweefsel voor water en zout	50
207. Diffusie/permeabiliteit; bepaling permeabiliteit van aardappelweefsel	52
208. Grootte en vorm van aardappelen; standaard maatsortering	53
209. Grootte en vorm van aardappelen; computer beeld analyse	54
210. Bepaling kooktype en afkookcijfer	55
211. Bepaling van de turbiditeit van kookwater	56
212. Bepaling van de T100-waarde	57
213. Bepaling gelatinisatie-enthalpie m.b.v. DSC-calorimetrie	58
214. X-ray diffraction	59
215. Beoordeling van chips	60

300. Bepaling peroxidase activiteit	61
301. Bepaling van de polyphenoloxidase (PPO) activiteit	63
302. Bepaling van de pectine methyl esterase (PME) activiteit	65
604. Beoordeling textuur nagebakken produkt door analytisch sensorisch panel	66
Key, lijst van te meten parameters.	67

Inleiding

Dit rapport geeft een overzicht van de methoden die gebruikt worden voor het bepalen van de grondstofeigenschappen in het kader van het VAVI-programma.

De volgorde en nummering komt overeen met de volgorde in het onderzoeksprogramma Tabel 1, pagina 18/19.

Op pagina 67 is de zogeheten Key toegevoegd. Dit is de lijst met de te meten parameters die uit het onderzoek naar voren (zullen) komen. De parameters voortkomende uit de analyses aan de grondstof en verwerking zullen statistisch worden geanalyseerd op hun samenhang met de parameters van het voor- en nagebakken produkt.

Voorbewerking door middel van vriesdrogen

Per partij moet ca. 0.75 tot 1 kg vers materiaal worden gevriesdroogd. Dit fungeert als representatief monster voor de gehele partij. Vanuit deze voorraad worden duplo (evt. triplo) monsters gehaald voor de diverse bepalingen.

1. neem een random monster van minimaal 20 aardappelen en schil ze.
Standaardschilwijze: 3 en 5 kg gedurende 3 minuten schillen in een Glastra messenschiller.
2. snij de aardappels in lengterichting in 4 kwarten (top/navel)!!
3. neem een kwart en snij het in kleine stukjes
4. doe de stukjes in de vloeibare stikstof
5. weeg ca. 300 gr per (vriesdroger)plaat af
6. plaats (max. 10 platen) in de vriesdroger en stel het apparaat in
7. na 3 dagen zijn de aardappelen droog (controleer)
8. weeg de platen (en bereken ds%)
9. vermaal het gevriesdroogde aardappelmateriaal en doe het in goed afsluitbare plastic potten
10. bewaar het materiaal in een koelcel (8°C)

101. Bepaling gemiddeld onderwatergewicht en afleiding drogestofgehalte.

Principe:

Het onderwatergewicht (OWG) is per definitie het gewicht onder water van een aardappelmonster. Is het OWG bekend, dan kan hiermee bij benadering het droge stofgehalte (DS gehalte) worden berekend.

Werkwijze:

Een bad met leidingwater van 10 à 12°C is geplaatst onder een tafel met daarop een balans. Aan deze balans hangt een mand die in het water is ondergedompeld.

Meting:

Uit een partij wordt een representatief monster van circa 5 kg genomen. De aardappelen worden grondig gewassen. Aanwezige zieke of bevroren knollen worden verwijderd en vervangen door gezonde knollen.

Eerst wordt in lucht het natte monster nauwkeurig gewogen (G1, 1 g nauwkeurig). Daarna wordt het monster in het bad onder de balans ondergedompeld en gewogen (G2, 1 g nauwkeurig). Daar G1 wordt bepaald op natte aardappelen, wordt in de formule ter berekening van het OWG een correctiefactor van 50 g toegevoegd dat bij benadering het gewicht van het aanhangend water van de gewassen aardappel is.

Berekening:

Het OWG wordt dan als volgt berekend :

$$\text{OWG} = \frac{5000 + 50}{G1} \times G2 \quad [\text{gram}]$$

Meting en berekening worden in duplo uitgevoerd en het gemiddelde OWG berekend. Met onderstaande formule kan bij benadering dan het DS gehalte worden berekend:

$$\% \text{ DS} = (0.05 \times \text{OWG}) + 1.7$$

Deze formule is ontwikkeld op ongeschilde aardappelen; de correlatie is in dat geval ook wat hoger dan bij geschilde aardappelen.

Het onderwatergewicht is bepaald aan zowel geschilde als ongeschilde aardappelen. Geschilde aardappelen zijn volgens de standaardmethode geschild.

101[1] betreft ongeschilde aardappelen (g/5000g)

101[2] betreft geschilde aardappelen (g/5000g)

102. Bepaling gemiddeld droge-stofgehalte in aardappelen.

Principe:

Het droge-stofgehalte (DS-gehalte) van aardappelen wordt bepaald door achtereenvolgens drogen bij 60 en 105°C.

Werkwijze:

Een representatief monster van 20 knollen rauwe aardappelen wordt in twee keer fijngemalen en gehomogeniseerd m.b.v. een Magi-Mix (grootte van de stukjes maximaal 0.5 cm). De tweede keer vermalen levert tevens het duplo-monster op. Hiervan wordt ongeveer 500 g (G1, 0.01 g nauwkeurig) op een bovenweger afgewogen en uitgespreid op een RVS-plaat. De plaat met monster wordt 15 uur gedroogd bij 60°C (=VOORDROGEN) in een droogkast. Afkoelen in de droogstoof gedurende ca.1 uur tot kamertemperatuur. Ondertussen worden aluminium weegdoosjes met geopend deksel in de droogstoof gebracht en gedurende 30 min. bij 105°C gedroogd. Daarna laat men ze minimaal een uur afkoelen in een exsiccator.

Het voorgedroogde monster wordt gewogen (G2, 0.01 g nauwkeurig). Na fijnmalen in een RETSCH-molen met zeef nr 4, wordt hiervan dan 3 à 4 g in een voorgedroogd weegdoosje gebracht. Doosje, monster en deksel worden op een analytische balans afgewogen (G3, 0.2 mg nauwkeurig).

Het doosje + monster wordt daarna met geopend deksel in de droogstoof gezet en 3 uur gedroogd bij 105°C (=NADROGEN). Vervolgens wordt na afkoelen in een exsiccator tot kamertemperatuur het geheel nagewogen (G4, 0.2 mg nauwkeurig).

Berekening:

Uit de verkregen weegresultaten wordt het totaal % DS dan als volgt berekend:

$$\% \text{ DS voorgedroogd produkt} = \frac{G2}{G1} \times 100 \quad \%$$

$$\% \text{ DS nagedroogd produkt} = \frac{G4}{G3} \times 100 \quad \%$$

$$\text{TOTAAL \% DS} = \frac{\% \text{ DS voorgedroogd prod.}}{100} \times \% \text{ DS nagedroogd produkt.}$$

De volledige procedure wordt in duplo herhaald en uit de verkregen resultaten wordt het gemiddelde totaal DS-gehalte berekend.

Droge-stofgehaltes werden bepaald aan rauwe, geblancheerde (5 minuten, 80°C; zie 105,p.11) en gekookte aardappelen (30 minuten in stoom; zie 105,p.11).

De parameters betreffen:

102[1] droge-stofgehalte rauwe aardappelen (%), 102[2] droge-stofgehalte geblancheerde aardappelen (%) en 102[3] droge-stofgehalte gekookte aardappelen (%).

103. Bepaling verdeling soortelijk gewicht tussen aardappelen.

Principe:

Het soortelijk gewicht (SG) van de individuele aardappelen binnen een partij is heterogeen verdeeld. Om deze verdeling kwantitatief te beschrijven worden aardappelen in een serie (keuken-)zoutbaden met oplopend SG gebracht en wordt bij ieder bad het gewichtspercentage drijvende aardappelen bepaald.

Werkwijze:

8 baden (inhoud 60 l) zijn gevuld met 40 l leidingwater van $20 \pm 1^\circ\text{C}$ en worden door zouttoevoeging (keukenzout) op verschillend SG gebracht, beginnend bij 1050 tot en met 1130 kg/m^3 met intervallen van 10 kg/m^3 . Uit onderstaande tabel wordt de hoeveelheid zout afgeleid die opgelost wordt per bad.

Het SG van ieder zoutbad wordt nagemeten met een aereometer (schaalverdeling 1 kg/m^3) en indien nodig bijgesteld.

Meting/Berekening:

Uit een representatief monster van 40 kg gewassen aardappelen wordt ongeveer 3 kg genomen en in het bad met SG 1050 kg/m^3 gedompeld. Dan worden de zinkende aardappelen overgebracht naar het volgende bad. Deze handeling wordt herhaald tot een bad bereikt wordt waarin geen enkele aardappel zinkt. Van ieder bad wordt na uitlekken het gewicht van de drijvende aardappelen bepaald (1 g nauwkeurig).

Dezelfde procedure wordt zoveel keer herhaald tot het volledige monster van 40 kg is ingedeeld volgens SG.

Voor ieder bad wordt ten slotte de som van de verkregen gewichten uitgedrukt als een percentage van het totale monstergewicht en het gemiddelde berekend.

Tabel bij voorschrift 103. Bepaling verdeling soortelijk gewicht tussen aardappelen:
Verband tussen zoutconcentratie en soortelijk gewicht voor een zoutoplossing op 20°C.

ZOUTCONCENTRATIE [g/l]	SOORTELIJK GEWICHT [kg/m ³]
15	1010
23	1015
31	1020
38	1025
45	1030
52	1035
60	1040
68	1045
75	1050
83	1055
90	1060
98	1065
105	1070
113	1075
121	1080
129	1085
137	1090
145	1095
153	1100
161	1105
168	1110
176	1115
184	1120
192	1125
200	1130
208	1135
216	1140
229	1145
241	1150

104. Bepaling verdeling soortelijk gewicht binnen aardappelen.

Principe:

De droge-stof binnen de aardappel is heterogeen verdeeld over de verschillende weefsels. Dit resulteert in lokale verschillen in soortelijk gewicht (SG). Om deze verschillen kwantitatief te beschrijven worden aardappelen versneden in blokjes van 10x10x10 mm. Die blokjes worden vervolgens ingedeeld in verschillende SG fracties door het gewichtspercentage drijvende blokjes te bepalen in een serie zoutbaden met oplopend SG.

Werkwijze:

15 baden (inhoud 20 l) zijn gevuld met 10 l leidingwater op $20 \pm 1^\circ\text{C}$ en worden door zouttoevoeging (keukenzout) op verschillend SG gebracht, beginnend bij 1010 tot en met 1150 kg/m^3 met interval 10 kg/m^3 . De op te lossen hoeveelheid zout per bad wordt afgeleid uit de tabel in methode "103. BEPALING VERDELING SOORTELIJK GEWICHT TUSSEN AARDAPPELEN". Het SG van ieder zoutbad wordt nagemeten met een aereometer (schaalverdeling 1 kg/m^3) en indien nodig bijgesteld.

Meting:

Een representatief monster van 10 kg gewassen aardappelen wordt met een HOBART-snijder in blokjes van 10x10x10 mm gesneden, die goed worden gemengd. Daarna worden ze in een bak gebracht die zorgvuldig afgesloten wordt gehouden.

Uit deze bak worden telkens $\pm 500 \text{ g}$ blokjes afgewogen op een bovenweger en in een mand met maaswijdte 2 mm in het bad met SG 1010 kg/m^3 gedompeld. De drijvende blokjes worden met een zeef uit het bad gehaald en worden na 2 min uitlekken gewogen (0.1 g nauwkeurig). Om het exakt gewichtspercentage drijvende blokjes te berekenen worden ook de zinkende blokjes na uitlekken gewogen.

Deze procedure wordt herhaald bij de daarop volgende baden tot een bad wordt bereikt waarin alle blokjes blijven drijven. Het gemiddelde en de variantie van elke partij wordt berekend.

105. Bepaling van het vochtgehalte van rauwe, geblancheerde en gekookte aardappelen door middel van een NMR meting.

Principe:

Proton Nucleair Magnetic Resonance (NMR) is een techniek die gebruik maakt van het specifieke spin-moment van de nucleus van protonen in een magnetisch veld waarbij energie, gekwantificeerd, wordt geabsorbeerd. Daar het watermolecuul twee protonen heeft is het mogelijk de hoeveelheid water te kwantificeren d.m.v. een NMR meting. Tevens is het mogelijk additionele informatie te krijgen over de toestand van het water (d.w.z. hoeveel water vrij is en hoeveel gebonden).

Procedure:

Het te analyseren monster wordt in een, van te voren gewogen, NMR buis gedaan. De buis mag tot maximaal 3 cm, vanaf de bodem gemeten, zijn gevuld. De buis met monster wordt voor de NMR meting gewogen om het monstergewicht te kunnen bepalen. De NMR data worden ingevoerd in LOTUS en verwerkt. Het NMR programma staat beschreven in tabel 1.

Procedure voor rauw materiaal:

Van een monster aardappels worden 20 knollen genomen en op standaard wijze geschild (zie ook pag.5). Het aanhangend water als gevolg van het schillen wordt met een handdoek verwijderd. Neem van de 20 knollen 1 kwart per knol en vermaal deze, zonder verwijderen van resten van de schil of verwijderen van "ogen" (pitten), in een Magi-mix gedurende 2 minuten. Voor het rauwe materiaal is met ingang van de vierde verwerking een nieuwe Magi-Mix machine gebruikt, die efficiënter vermaalt; de massa wordt een vloeibare slurry. De vermalingsprocedure is nu continu 2 minuten.

Het vermalen materiaal wordt overgegoten in een beker. De inhoud wordt nogmaals goed vermengd en ca. 22 gram van het vermalen materiaal in een NMR buis gedaan. De buis kan daarna gemeten worden in de NMR. De gehele procedure van 20 knollen schillen en vermalen wordt herhaald om een duplo waarde te krijgen.

Procedure voor geblancheerd materiaal:

Deze procedure, evenals die voor gekookt materiaal, is uitgevoerd t/m het derde verwerkingstijdstip, niet op het vierde verwerkingstijdstip.

Van een monster aardappelen worden 20 knollen genomen en op standaard wijze geschild (zie ook pag.5). Zonder pitten (het verwijderen van laatste resten schil en ogen) worden de aardappelen in een frietsnijder gedaan (10x10mm). Ongeveer 900 gram gesneden aardappelstaafjes worden in een net gedaan. Dit wordt herhaald voor de duplo meting. Beide netjes worden 2 minuten in koud stromend water gehangen en daarna geblancheerd bij 80°C gedurende 5 minuten. Vervolgens afgekoeld door 10 keer in koud kraanwater te dompelen. Het net wordt geschud om aanhangend water te verwijderen. De vermalingsprocedure bestaat uit 5 korte pulsen gevolgd door 30 seconden continu malen. Vervolgens wordt de Magi-mix geopend om de stukjes aardappel die buiten het bereik van het mes liggen met een lepel omlaag te duwen, gevolgd door nog eens 30 seconden continu vermalen.

Ongeveer 23 gram van het vermalen materiaal wordt in een NMR buis gedaan voor een meting. De waarden van duplo meting worden verkregen door meting op de vermalen aardappels uit het tweede net.

Procedure voor gekookt materiaal:

Van een monster aardappelen worden 16 knollen genomen en op standaard wijze geschild (zie ook pag.5), zonder verwijderen van de laatste resten schil en ogen. De aardappelen worden overlangs in tweeën gesneden en 16 halve aardappels worden in stoom gekookt gedurende 30 minuten en daarna op een diep bord gelegd. Na 10 minuten wordt het bord bedekt met een natte doek en de aardappels koelen af gedurende 2 uur en 30 minuten. Daarna wordt er puree van gemaakt in de Magi-mix, waarbij gebruik wordt gemaakt van een speciaal mes, een mes vergelijkbaar met dat van de handpureerder. Ongeveer 23 gram van het vermalen materiaal wordt in een NMR buis gedaan voor een meting. Voor een duplo waarde is van dezelfde puree een tweede monster genomen. Alle te meten monsters voor de NMR, zowel rauw, geblancheerd als gekookt, werden vooraf in een waterbad geplaatst van 25°C gedurende 20 minuten.

Tabel I - NMR programma instellingen

Parameter	Waarde	Units
Shift ADV	off	
ENH	3	
RD	8	Sec.
ATT	39	dB
BW	=	100 kHz
DUR 01 rauw DUR 01 geblan. DUR 01 gekookt	500 250 250	µs
DUR 02 rauw DUR 02 geblan. DUR 02 gekookt	1000 500 500	µs
PS (*)		

De puls-sequentie (PS) is afkomstig van het Carr-Purcell_Meibbaum-Gill puls programma. Het NMR-signaal van het verse materiaal wordt gefit aan de volgende vergelijking: NMR-signaal = $S_a \times \exp(-\text{tijd}/T_{2a}) + S_b \times \exp(-\text{tijd}/T_{2b})$; waarin S_a en S_b de amplitudes zijn en T_{2a} en T_{2b} de relaxatietijden. T_{2a} en S_a hebben betrekking op het gebonden water en T_{2b} en S_b op het vrije water in het monster. Het NMR-signaal van het geblancheerde en gekookte materiaal wordt gefit aan de volgende vergelijking: NMR-signaal = $S \times \exp(-\text{tijd}/T_2)$. De parameters 105[11] en 105[12] betreffen de T_{2a} en T_{2b} van vers materiaal; de parameters 105[13] en 105[14] zijn resp. S_a en S_b van vers materiaal. De parameters 105[15] en 105[17] zijn de relaxatietijden voor geblancheerd en gekookt materiaal. De 105[16] en 105[18] zijn de resp. amplitudes. De amplitude-waarden worden gecorrigeerd voor het monstergewicht. De relaxatietijden worden uitgedrukt in msec; de amplitudes in volts.

106a. Bepaling van het gehalte van de belangrijkste componenten in rauwe, geblancheerde en gekookte aardappelen door middel van een NIT meting.

Principe:

Nabij Infrarood Transmissie (NIT) is een techniek gebaseerd op de eigenschappen van doorvallend licht bij verschillende golflengtes. De eigenschappen van het doorgelaten licht zijn karakteristiek voor het materiaal waar het door heen gaat. Het te meten golflengtegebied loopt van 800 tot 1100nm. De lichtbundel passeert het monster op 15 verschillende plaatsen; de 15 gedetecteerde signalen worden gemiddeld tot één waarde voor het desbetreffende monster. Het watergehalte heeft grote invloed; hoe hoger het watergehalte des te lager de gemeten absorptiewaarde. Er zijn aanwijzingen dat deze techniek ook bruikbaar is voor zetmeelbepaling en vetbepaling (de laatste alleen in frites).

Procedure:

Het monster wordt op een NIT plaat gebracht. De plaat wordt vooraf en achteraf gewogen om het monstergewicht voor en na de meting te kunnen bepalen. Met een lepel wordt het monster nauwkeurig verspreid op de plaat, zodat overal eenzelfde monsterdikte aanwezig is.

Procedure voor rauw materiaal:

Van een monster aardappels worden 20 knollen genomen en op standaard wijze geschild (zie ook pag.5). Het aanhangend water als gevolg van het schillen wordt met een tissue verwijderd. Neem 1 kwart per knol en zonder verwijderen van resten van de schil of verwijderen van "ogen" (pitten), worden de kwarten knol vermalen in een Magi-mix. De vermalings-procedure is gelijk aan die zoals beschreven bij het rauwe materiaal van methode 105, p.11. Het vermalen materiaal wordt overgegoten in een beker. De inhoud wordt nogmaals goed vermengd en ca. 150 gram van het vermalen materiaal wordt op een NIT plaat gebracht; dit gebeurt binnen 2 minuten. De eerste metingen (eerste verwerkingsronde) werden begonnen na 8½ minuten, teneinde het monster te laten stabiliseren. Tegenwoordig wordt direct gemeten. De gehele procedure van het schillen en vermalen van 20 kwarten van 20 knollen wordt herhaald om een duplo waarde te krijgen.

Procedure voor geblancheerd materiaal:

Deze procedure, evenals die voor gekookt materiaal, is uitgevoerd t/m het derde verwerkingstijdstip, niet op het vierde verwerkingstijdstip.

Van een monster aardappelen worden 20 knollen genomen en op standaard wijze geschild (zie ook pag.5). Zonder pitten (het verwijderen van laatste resten schil en ogen) worden de aardappelen in een frietsnijder gedaan (10x10mm). Ongeveer 900 gram gesneden aardappelstaafjes worden in een net gedaan. Dit wordt herhaald voor de duplo meting. Beide netjes worden 2 minuten in koud stromend water gehangen. Een netje met aardappels wordt geblancheerd bij 80°C gedurende 5 minuten. Vervolgens afgekoeld in koud stromend kraanwater (10x dompelen). Het net wordt geschud om aanhangend water te verwijderen. De geblancheerde aardappelstaafjes worden in de Magi-mix gedaan en vermalen zoals beschreven voor het geblancheerde materiaal op pag 11, methode 105. Ongeveer 150 gram van het vermalen materiaal wordt op de NIT plaat gebracht voor een meting; dit gebeurt binnen 2 minuten. Ook hier wordt 8½ minuut gewacht tot het monster is gestabiliseerd. Daarna wordt het tweede netje met aardappels geblancheerd, vermalen en gemeten voor een duplo waarde.

Procedure voor gekookt materiaal:

Van een monster aardappelen worden 16 knollen genomen en op standaard wijze geschild (zie ook pag.5), dit keer zonder het verwijderen van laatste resten schil en ogen. De aardappels worden overlangs in tweeën gesneden en 8 halve aardappelen worden in stoom gekookt gedurende 30 minuten en op een diep bord gelegd. Na 10 minuten wordt het bord bedekt met een natte doek en de aardappels koelen af gedurende 2 uur en 30 minuten. Daarna wordt er puree van gemaakt in de Magi-mix, waarbij gebruik wordt gemaakt van een speciaal mes, een mes vergelijkbaar met dat van de handpureerder. Ongeveer 180 gram van het vermalen materiaal wordt op de NIT plaat gebracht voor een meting. De meting wordt direct gestart. Van dezelfde puree wordt een monster genomen voor de duplo meting.

106b. Infraroodspectroscopie (IRS) in relatie tot aanwezigheid en toestand water en droge-stofgehalte.

Principe:

Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) is een praktische analytische methode die gebruikt wordt in de voedingsmiddelen industrie. Het wordt gebruikt voor bepaling van eiwit-, vet/olie-, koolhydraat- en watergehaltes van plantaardige produkten. Voor metingen aan aardappels is deze methode nog niet gebruikt.

De hier beschreven methode is gebaseerd op absorptie van straling met een golflengte in het nabije infrarood gebied ($\lambda=1000-2500$ nm). De absorptie is voornamelijk toe te schrijven aan het waterstof atoom. Verbindingen met groepen zoals -CH, -OH, -NH absorberen dus in het nabije infrarood gebied. Het NI-spectrum bevat dus informatie over de chemische compositie van het materiaal. Het spectrum bevat echter ook informatie over interacties tussen overlappende componenten en is behept met een zekere ruis als gevolg van lichtverstrooiing. Teneinde relevante informatie te extraheren uit het spectrum, wordt het meetsysteem gekoppeld met materialen van bekende samenstelling.

Werkwijze:

Aardappelen 20 knollen (is ca. 5 kg) worden gewassen, geschild en gesneden in vier kwarten. Twintig kwarten (van elke aardappel één kwart) worden gedurende 10 seconden gehomogeniseerd in a mixer (Retsch) tot een gladde pap.

Meting

Het spectrum ($\lambda=1100-2500$ nm,) van de monsters wordt opgenomen (scan interval $\Delta\lambda=4$ nm) met een infrarood apparaat (Bran & Luebbe InfraAnalyzer 500). Het cuvet bestaat uit een cupje met een deksel van kwarts. Elke bemonsterde partij wordt twee keer gemeten (twee keer afwegen) en elk spectrum wordt verkregen door 1 scan. Het gemiddelde van de twee spectra wordt gebruikt in de data analyse.

Data analyse

Het verband tussen het spectrum, bestaande uit 351 datapunten, en de chemische grootheid (zetmeel,, uronz. etc) wordt m.b.v. multivariabele regressie (partial least square (PLS) regression) onderzocht.

107. Bepaling zetmeelgehalte

Principe:

De zetmeelfractie wordt verkregen door gevriesdroogd materiaal excessief te spoelen met alcohol. De suikers, alcohol oplosbaar, worden zo gescheiden van het alcohol onoplosbare zetmeel. De alcohol oplosbare (suiker-)fractie wordt ingedampt om later het suikergehalte van het monster te kunnen meten. De zetmeelfractie wordt gedroogd en opgelost in Dimethyl Sulfoxide (DMSO). Het zetmeel wordt enzymatisch gesplitst in glucose, door het enzym amyloglucosidase. Glucose wordt spectrofotometrisch bepaald door twee enzymatische reacties waarbij het glucose eerst wordt gefosforyleerd door het enzym hexokinase tot glucose-6-fosfaat en vervolgens geoxideerd tot gluconaat-6-fosfaat door het enzym glucose-6-fosfaat dehydrogenase waarbij het gereduceerde nicotinamide adenine dinucleotidofosfaat (NADPH) wordt gemeten door de absorptie bij 340 nm.

Werkwijze:

Extraktie-methode voor zetmeel:

- * 2,5 gram gevriesdroogd en gemalen monster nauwkeurig afwegen in een extractiekolf van 250 ml
- * 75 ml Methanol 80% toevoegen,
- * gedurende 1 uur extraheren met kokende alcohol met terugvloei koeling
- * na afkoelen filtreren over een glasvezelfilter "Whatman GF/C" doorsnede 9.0 cm.
- * het residu wassen met 80% methanol tot een volume van ± 200 ml,

Extraktie-methode voor suiker:

het alcohol filtraat indampen m.b.v. een Rotavapor (temp. 40°C) tot een klein volume (methanol moet eruit zijn) en overbrengen in maatkolf van 100 ml. Aanvullen tot de streep met demi-water, na goed schudden ± 20 ml overschenken in een plastic flesje en invriezen.

N.B. voordat het suikergehalte van het monster, na ontdooien, bepaald kan worden, wordt het monster eerst 10 minuten gecentrifugeerd (in puntbuis of eppendorfvaaatje).

Zetmeelbepaling:

het residu drogen en wegen (in mortier fijnmaken) en in potje bewaren.

Oplossen zetmeelfractie:

1. In 100 ml erlenmeyer 0,200 gram gevriesdroogd aardappel poeder nauwkeurig afwegen.
2. 20 ml DMSO toevoegen goed schudden.
3. 5 ml 8N HCL toevoegen en weer goed schudden.
4. gedurende 60 min. incuberen bij 60°C in schudwaterbad.
5. daarna 5 ml 8N NaOH toevoegen. Het zetmeel is nu volledig in oplossing
6. aanvullen met 0,112N Citraatbuffer met pH 4.
7. filtreren over vouwfilter 595½ (S&S) en voor het bepalen van het zetmeelgehalte het heldere filtraat 1:10 verdunnen.

* in kuvet pipeteren:

- * 100 μ l citraatbuffer, pH = 4,6
- * amyloglucosidase 84U
- * + 50 μ l monster (3-70 μ g zetmeel) danwel standaard
- * 15 min. incuberen bij 55 - 60 °C
- * + 1 ml triethanolaminebuffer, 30mM, pH = 7,6
waarin NADP 2,34 μ g en MgATP 5,9 μ g
- * + 1 ml demi-water
- * na $\pm$ 3 min. meten (A1)
- * + 10 μ l waarin hexokinase 200U en
glucose-6-fosfaat dehydrogenase 100U
- * na $\pm$ 10 -15 min. meten bij 340 nm

108. Microscopische bepaling vorm en grootte zetmeelkorrels

Een snelle en eenvoudige methode om de vorm en grootte van de zetmeelkorrels te bepalen is niet voorhanden en is bij de start van het onderzoek als mogelijke meet-optie voorgesteld. Bij afwezigheid van een dwingende noodzaak deze bepaling uit te voeren, is deze meting tijdens het gehele onderzoekstraject niet uitgevoerd.

109. Bepaling van pH en bufferende capaciteit

Principe:

De overall zuurgraad (pH) van de aardappel wordt gemeten door gevriesdroogde, vermalen aardappel te solubiliseren in water en de pH te meten. Om een schatting van het bufferend vermogen te krijgen wordt de oplossing getitreerd met natronloog en zoutzuur.

Door de verkregen titratiepunten wordt een (S-vormige) mathematische functie gesimuleerd, waarbij de correlatie, $R^2 > 0,995$, aangeeft dat de mathematische functie dermate goed is dat minder dan een half procent van de gemeten data onverklaard is.

Het buigpunt van de curve wordt bepaald, door dubbel te differentiëren. Dit buigpunt is tevens de midpoint. De hieronder vermelde formules zijn geldig rond het midpoint.

$$B \text{ (capaciteit)} = \frac{d \cdot b}{dpH}$$

waarin b het toegevoegde titrant is en

$$B = \frac{2,3}{4} \cdot c$$

waarin c de totale bufferconcentratie is. Voor elke meting is de gemeten pH, de midpoint (pK) en c/g DS gemeten danwel berekend.

Uitvoering:

Weeg tussen de 1,75 en 2,25 gram gevriesdroogde vermalen aardappel af.

Breng het over in een 50 ml bekersglasje,

Voeg 10* zoveel aan milli-Q water toe, eerst 1-2ml, laat de roervlo er een papje van draaien en dan langzaam de rest van het water toevoegen.

Meet de pH en wacht even tot de pH is gestabiliseerd. (ca. 1 minuut)

De pH zal dan ergens tussen de 5,5 en 6,5 zijn.

Voeg 0,1N NaOH in 100µl stapsgewijs toe met een finnpipet en noteer telkens de bereikte pH. Doe dat tot tenminste pH=9 is bereikt (ca. 50 stappen).

Voeg vervolgens in één keer evenveel 0,1M HCL toe als je aan loog hebt toegevoegd; de pH daalt dan weer tot aan het punt waar je bent begonnen.

Voeg dan 25 * 100µl HCL stapsgewijs toe, net als je met het loog hebt gedaan en noteer de pH.

110. Ionenanalyse

Principe:

De methode berust op een HPLC-methode, zoals beschreven in Waters/Millipore handleiding HPLC. Er wordt gebruik gemaakt van een IC-Pak Anion kolom met boraat/gluconaat als loopmiddel voor anionen en een IC-Pak C kolom met 2mM HNO₃ en 0.5mM EDTA als loopmiddel voor cationen. Detectie is door middel van een geleidbaarheidsdetector.

Werkwijze voor cationen:

1. neem 0,5 gr aardappelpoeder en voeg 5,0 ml 100mM HNO₃ waarin 1 mM LiCl als interne standaard.
2. kook in waterbad gedurende 10 minuten, soniceer om het gevormde stijfsel op te lossen en verwarm nogmaals in waterbad van 100°C gedurende 20 minuten.
3. centrifugeer 2 ml in een eppendorf-centrifuge.
4. mix 200µl supernatant met 400µl anionwisselaar gedurende 10 minuten (DOWEX kolommateriaal dat vooraf excessief gespoeld; 50 gram materiaal spoelen met 10 liter MQ-water). Aanvullen met elutie-vloeistof tot 2ml en centrifugeren. Het supernatant overbrengen voor analyse. Voor de bepaling van de kalium concentratie moet dit monster 1:10 worden verdund in elutiebuffer. De waarden worden uitgedrukt in mg/g FW, 110[1 t/m 4].

Voor bepaling van ijzerionen wordt gebruik gemaakt van totale natte verassing in HNO₃ en H₂SO₄ in een verhouding van 4 gram droge op 4 ml H₂SO₄ en vier maal 6 ml HNO₃ bij verhitting tot 175°C tot alles is opgelost en een licht geel gekleurde oplossing over is gebleven. Van deze oplossingen worden de ijzergehaltes met atomic absorption bepaald. De extractie is in duplo, de meting zelf is een gemiddelde van vijf read-outs. Het ijzergehalte, 110[5], wordt in mg/g FW uitgedrukt.

Werkwijze voor anionen:

1. neem 0,2 gram aardappelpoeder en voeg 2ml 5mM NaNO₂ (interne standaard) toe.
2. Dispergeer het poeder op een wervelaar (ca. 10 minuten)
3. centrifugeer de ca. 2 ml in een eppendorf-centrifuge.
4. Clean-up met Sep-Pak C18.

De verkregen waarden worden uitgedrukt in mg/g FW, 110[6 t/m 9].

111. Bepaling calcium (lokatiegebonden)

In het onderzoek is deze bepaling niet meegenomen.

112. Bepaling van organische zuren

Principe:

Met de methode is gebaseerd op een HPLC methode zoals beschreven is door Waters/Millipore (IC-Pak™ ion exclusiekolom met octaansulfonzuur of HNO_3 als loopmiddel en detectie middels een geleidbaarheidsdetector), bleek het wel mogelijk een aantal zwakke zuren te scheiden, maar niet de verschillende organische zuren waarvoor binnen het kader van dit onderzoek belangstelling bestaat.

De bepaling voor deze organische zuren blijft uitgevoerd zoals beschreven in methode 118^c.

113. Bepaling kleurindex

1) Monster

Uit een representatief monster van 20 gezonde knollen wordt uit het hart van elke knol met een snijder in de lengte-richting een staafje van 10 x 10 mm gesneden.

2) Wassen

De staafjes worden gedurende 30 seconden in koud stromend water gewassen, waarna het aanhangend water wordt afgeschud.

3) Bakoven

De bakoven moet zijn voorzien van een thermostaat, waarmee een temperatuur van 180°C kan worden aangehouden met een maximale afwijking van $\pm 5^\circ\text{C}$. De bakoven dient een nuttige (olie-)inhoud te hebben van minimaal 6 liter. Om de temperatuurschommelingen binnen de gestelde waarden te houden, dient een gevoelige thermostaat te worden geïnstalleerd (b.v. Pt-100) en een verwarmingselement van voldoende capaciteit (380 V, 7 à 10 Kw).

4) Bakvet

Er wordt gebakken in 100% gehard plantaardig vet. Het vet moet worden vernieuwd wanneer de kleur te bruin wordt. Vernieuwing van het vet vindt plaats na 14 dagen danwel na het bakken van 200 monsters.

5) Bakmonster

De temperatuur bij het bakken moet 180°C zijn, hetgeen altijd met een thermometer dient te worden gecontroleerd. De baktijd is precies 3 minuten, te controleren met een stopwatch. De staafjes moeten tijdens het bakken heel blijven.

6) Beoordeling

Na de baktijd moet het vet door schudden van het monster worden verwijderd en binnen 2 minuten na het bakken moet het monster worden vergeleken met de kleurenkaart (Munsell Color Company, 3e editie, 1972).

De vergelijking van de kleur van het gebakken produkt met de kleurenkaart dient plaats te vinden op een beoordelingstafel met als standaardverlichting TL-buis nr. 95, welke 1,5 meter boven de tafel is opgehangen. Beoordeling van de kleur van de fritesstaafjes dient tegen eenzelfde achtergrondkleur te geschieden als de kleurenkaart (bijv. een keukenrol). De staafjes worden vergeleken met de kleuren op de kleurenkaart en per kleur gegroepeerd. Met de kleurenkaart worden staafjes ingedeeld in de klasse 000, 00, 0, 1, 2, 3, en 4. Indien van een fritesstaafje 5 mm tot de helft donkerder is gekleurd (bruine punten) dan het andere deel, dan moet in de kleurenschaal 1 klasse hoger aangehouden worden dan die van het minst verkleurde deel.

Bij een donkere verkleuring van meer dan de helft van het fritesstaafje is de kleur van het grootste deel bepalend voor de klasse-indeling. Aan de hand van de beoordeling en de indeling van de 20 staafjes in de diverse klassen wordt de kleurindex (bakkleurcijfer) berekend.

Voorbeeld

Kleurenschaal	:	000,	00,	0,	1,	2,	3,	4
Monster	:		2,	9,	7,	2		
Vermenigvuldingsfactor	:	0,	1,	2,	3,	4,	5,	6

Bakkleurcijfer	:	$\frac{2 \times 1 + 9 \times 2 + 7 \times 3 + 2 \times 4}{20} = 2,45$
----------------	---	---

114. Bepaling van het glucosegehalte

115. Bepaling van het fructosegehalte

116. Bepaling van het sucrosegehalte

Principe:

De methode staat volledig beschreven in Methods of Biochemical Analysis and Food Analysis. Uitgegeven door Boehringer Mannheim.

De monstervoorbereiding staat beschreven bij de zetmeelbepaling (methode 107). De te meten fractie is de alcohol oplosbare fractie. Na droogdampen wordt eerst het glucosegehalte bepaald door omzetting van glucose door het enzym hexokinase in glucose-6-fosfaat. Een tweede enzym, glucose-6-fosfaat dehydrogenase, zet dit om in gluconaat-6-fosfaat. Het daarbij gevormde wordt NADPH spectrofotometrisch bepaald. bij 340nm (zie ook zetmeelbepaling).

Hexokinase fosforyleert ook het aanwezige fructose tot fructose-6-fosfaat, hetgeen als toename in absorptie (NADPH vorming) wordt geregistreerd, maar wel pas als fosfogluucose-isomerase wordt toegevoegd dat fructose-6-fosfaat omzet in glucose-6-fosfaat.

Als laatste wordt het enzym β -fructosidase toe gevoegd waarbij het aanwezige sucrose wordt gesplitst in glucose en fructose. Deze reactieproducten worden weer omgezet als boven beschreven en als toename in absorptie gemeten.

Werkwijze:

Er worden vier standaardoplossingen gebruikt, te weten:

1. citraatbuffer pH=4,6 en β -fructosidase 72 U/ml.
2. triethanolamine buffer pH=7,6; NADP 2,44 mg/ml; MgATP 5,78 mg/ml
3. hexokinase 290 U/ml; glucose-6-fosfaat dehydrogenase 145 U/ml.
4. fosfogluucose isomerase 700 U/ml.

De golflengte waarbij wordt gemeten is 340nm. De extinctiecoëfficiënt is $6,3 \text{ mmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

	blanco D-glucose D-fructose	monster D-glucose D-fructose	blanco sucrose	monster sucrose
oplossing 1 monster	- -	- 0,10 ml	0,20 ml -	0,20 ml 0,10 ml
mengen, 15 minuten incuberen bij 20-25°C. Oplossing 1 voor toevoegen op 37°C brengen.				
oplossing 2 gedest. water	1,00 ml 2,00 ml	1,00 ml 1,90 ml	1,00 ml 1,80 ml	1,00 ml 1,70 ml
mengen en absorpties (340nm) aflezen na 3 minuten en start de reacties door				
oplossing 3	0,02 ml	0,02 ml	0,02 ml	0,02 ml
mengen en wachten tot reactie is afgelopen (10-15 minuten). Zo gauw de absorptie constant is voeg dan toe:				
oplossing 4	0,02 ml	0,02 ml	-	-

De berekening van de concentraties gaat volgens de formule:

$$C = \frac{(\text{totaal volume}) \cdot \text{molecuulgewicht}}{6,3 \cdot (\text{lichtweg in cm}) \cdot (\text{monstervolume in ml}) \cdot 1000}$$

Voor sucrose wordt dat:

$$C = \frac{3,02 \cdot 342,30}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,1 \cdot 1000} \cdot \text{absorptieverschil} = \text{g sucrose/l monster}$$

Voor glucose wordt dat:

$$C = \frac{3,02 \cdot 180,16}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,1 \cdot 1000} \cdot \text{absorptieverschil} = \text{g glucose/l monster}$$

Voor fructose wordt dat:

$$C = \frac{3,04 \cdot 180,16}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,1 \cdot 1000} \cdot \text{absorptieverschil} = \text{g fructose/l monster}$$

De uiteindelijk verkregen waarden, 114 t/m 116, worden uitgedrukt in g/100 DW.

117. Bepaling samenstelling celwand

Principe:

Tijdens koken van aardappelen worden bepaalde pectine-fracties uit de aardappelen geëxtraheerd. Het uronzuurgehalte van het kookwater en aardappelweefsel is een maat voor de geëxtraheerde hoeveelheid pectine. Omdat zetmeel de bepaling kan storen, moet daarvoor gecorrigeerd worden. Het pectinegehalte en daarmee de samenhang van de cellen onderling wordt belangrijk geacht bij de uiteindelijke structuur en meligheid van het verwerkte produkt.

Werkwijze:

De aardappelen worden gevriesdroogd en bewaard in afwachting van verdere analyses.

Bepaling uronzuurgehalte in aardappelweefsel

Het uronzuurgehalte in de gevriesdroogde aardappelen wordt bepaald met behulp van de m-hydroxydiphenyl methode van Ahmed en Labavitch (1977) waarbij de hoeveelheid reagentia wordt aangepast aan een monstergrootte van 0,2 ml. Bepalingen worden verricht in drievoud.

Monstervoorbereiding:

Gevriesdroogd materiaal (0,1 g) wordt voorbehandeld met 12M H_2SO_4 en gehydrolyseerd gedurende 2 uur in 1M H_2SO_4 bij 100 °C.

- 100 mg monster in buizen inwegen
- buizen met kleine roervlo, 2 uur laten roeren bij kamertemperatuur
- 11 ml demi toevoegen
- buizen 2 uur verhitten bij 100 °C.
- buizen koelen met kraanwater
- oplossing gebruiken voor galacturonzuurbepaling

Het gefiltreerde kookmedium wordt 5 minuten gecentrifugeerd (12000g) alvorens het uronzuurgehalte van de supernatanten wordt bepaald.

Meting:

H_2SO_4 /TetraBoraat	0,0125 M Natrium tetraboraat in geconcentreerd H_2SO_4
MHDP-oplossing	0,15% MHDP in 0,5% NaOH-oplossing (bewaren: T=3 °C, donker) bewaren)
NaOH-oplossing	0,5%
Ijkkreeks-oplossing galA	20, 40, 60 en 75 µg/ml
Monster	

Monster	Monster Blanko	Reagentia blanko
Mix in een cuvet de volgende oplossing: - 200 µl monster - 1,2 ml H₂SO₄/Tetraboraat Koel af in ijsbad. Verwarm 5 min. bij T= 100 °C, Koel af met kraanwater Voeg toe: - 20 µl MHDP-oplossing Mix en bepaal de absorptie bij - 520 nm	Mix in een cuvet de volgende oplossing: - 200 µl monster - 1,2 ml H₂SO₄/Tetraboraat - 20 µl NaOH-oplossing Mix en bepaal de absorptie bij - 520 nm	Mix in een cuvet de volgende oplossing: - 200 µl demi-water - 1,2 ml H₂SO₄/Tetraboraat - 20 µl NaOH-oplossing Mix en bepaal de absorptie bij - 520 nm

Berekening:

Interpolatie in ijklijn van galacturonzuur met in acht neming van de volgende correctiefactor:

$$\text{Correctiefactor} = \Delta A_{\text{monster}} / \Delta A_{\text{monster blanco}}$$

Zetmeelgehalte

Zetmeelgehalte wordt bepaald zoals eerder beschreven.

Literatuur:

- * Ahmed, AER & JM Labavitch, 1977. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. Journal of Food Biochemistry 1: 361-365
- * Kintner, PK en JP van Buren, 1982. Carbohydrate interference and its correction in pectin analysis using m-hydroxyphenyl method. Journal of Food Science 47: 756-759.

117[3] Totaal fenolen (spectrofotometrisch)

Principe

Fenylresiduen (in tyrosine, tryptofaan, chlorogeenzuur, koffiezuur, coumaarzuur etc.) reageren met het CioCalteusfenolreagens en vormen daarbij een complex. Dit complex wordt blauw in alkalisch milieu. Tyrosine en tryptofaan komen ook in eiwitten voor, daarom moeten aanwezige eiwitten m.b.v. TCA neergeslagen worden. De kleurvorming is tijdsafhankelijk, dus dienen alle monsters op hetzelfde tijdstip gemeten te worden.

Werkwijze

100ml gevriesdroogd aardappelmateriaal wordt ingewogen in een epje van 2 ml (in duplo). Hierna wordt 1 ml ijskoude Nafosfaatbuffer toegevoegd en 1 min gemengd met de vortex.

De suspensies worden op ijs gezet en zo snel mogelijk hierna gecentrifugeerd gedurende 10 minuten bij 12.000 rpm (Microspin 24 S) in de koude kamer. Bij voorkeur niet te veel monsters tegelijk opwerken om zo min mogelijk last te hebben van enzymactiviteit.

Teneinde eiwitten neer te slaan (en enzymactiviteit teniet te doen) wordt 500 µl van het koude supernatant toegevoegd aan 450 µl TCA (in een 1ml-epje). Pas dan kunnen de mengsels blijven staan (nu wel bij kamertemp). Het mengsel wordt gecentrifugeerd gedurende 30 minuten bij 12.000 rpm. Het supernatant wordt in the assay gebruikt.

Voor de ijklijn wordt een oplossing van chlorogeenzuur gebruikt: 22.1mg/10ml demiwater; resp 0-10-20-30-40-50-60-70µl aanvullen met H₂O tot 500 µl; 450 µl TCA-opl toevoegen. Deze opl hoeven niet gecentrifugeerd te worden.

Assay:

in 2ml-epje:

- * 400 µl demiwater
- * 100 µl supernatant
- * 1 ml Na₂CO₃, en onmiddellijk !!! na toevoegen van deze opl
- * 300 µl Folin Ciocalt-reagens

Meet de absorptantie in een doorstroomcuve bij 650nm na 30.0 min
bewaren in het donker

Benodigdheden:

- 1- Nafosfaatbuffer 0.1M, pH=6.5
- 2- 1.4M Na₂CO₃-oplossing (148.4 gram watervrije per liter) Zes maanden houdbaar
- 3- 10% TCA-oplossing (100 gram TCA per liter) Zes maanden houdbaar
- 4- 0.125mM Chlorogeenzuur (sigma 3878 - MW 354.3; stockopl 22.1mg/10ml)
Houdbaarheid één (1) dag.
- 5- centrifuge Sorvall-microspin24S, maximale snelheid
- 6- spectrofotometer met doorstroomcuve (Starrcol-Standard in lab 2.13)

$$\text{Tot.fenolen} = 117[3] = \frac{\text{afgelezen waarde ijklijn}}{\text{verdunningsfactor}} \text{ (mg/100 gr)}$$

118. Bepaling van componenten in relatie tot grauwverkleuring; chlorogeenzuur, ascorbinezuur en organische zuren.

118a Bepaling van chlorogeenzuur.

Principe:

Het chlorogeenzuur wordt uit het gevriesdroogde aardappelmateriaal geëxtraheerd met 80 % ethanol. Na filtratie en verwijderen van de ethanol m.b.v. een filmverdamer wordt het extract opgenomen in het eluens van de HPLC, waarmee uiteindelijk het chlorogeenzuur wordt bepaald.

Werkwijze:

Benodigdheden	Apparatuur
Erlenmeiers 300 ml Trechters S&S vouwfilters 595½ Rondbodempolven van 1 liter Maatkolfjes van 100 ml Afsluitbare monsterbuisjes, inhoud 3 ml Plastic injectiespuitjes, 3 ml Microfilters 0,45 µm Hamilton injectiespuit van 25 µl	Waring Blender Filmverdamer met waterbad HPLC apparatuur: Waters model 510 pomp met U6K injector Waters Novapak C18 kolom met Novapak C18 guard kolom Radiale compressie module 8x10 Waters 484 tunable UV detector Waters 741 Data Module

Reagentia
- 80 % ethanol (2 lit. ethanol absoluut + 500 ml HPLC-grade water. - Methanol p.a. Merck 60090 - Mierezuur p.a. Merck 264 - Gentsinezuur (2,5 Dihydroxybenzoezuur) Sigma nr. C 3878 - Chlorogeenzuur Sigma G 5254 - Milli Q water - Eluens HPLC: - 200 ml methanol + 800 ml Milli Q water + 0,1 ml mierezuur - Ultrafiltreren en ontgassen.

Monstervoorbereiding

- 5 g gevriesdroogd aardappelpoeder afwegen in een bekglaasje van 100 ml. en kwantitatief overbrengen in een beker van de Waring Blender met 100 ml 80 % ethanol.
- 2 ml gentisinezuur oplossing toevoegen als interne standaard. (100 mg gentisinezuur/100 ml water)
- Gedurende 1 minuut mixen op de lage snelheid.
- De slurry filtreren over een S&S 595½ vouwfilter in een rondbodempol van 1 liter.
- De oplossing bijna droogdampen (tot ongeveer 4 ml) m.b.v. een filmverdamer (waterbad 30 °C).
- Het residu overspoelen met eluens van de HPLC in een maatkolfje van 100 ml, aanvullen, mengen en ultrafiltreren m.b.v. een plastic injectiespuitje en een microfilter van 0,45µm.

Chromatografie

Kolom: Novapak C18 radial-pak geplaatst in een RCM 8x10 module volgens Waters operator's manual, met een Nova-pak C18 guard kolom.

Eluens: Methanol ultrafiltreren

Milli Q water ultrafiltreren

Bij elkaar voegen: 1) 200 ml methanol, 2) 800 ml water, 3) 0,1 ml gec.mierezuur

Mengen en ontgassen met een heliumstroom.

Flow: 1,0 ml/min.

Meting:

Absorptie meten met een LC-UV detector bij 324 nm.

Standaarden:

Stockoplossing chlorogeenzuur - 100 mg/100 ml water

Stockoplossing gentisinezuur - 100 mg/100 ml water(int.st.)

Bereiding ijklijn:

Standaard reeks maken van 2 ml. stockoplossing interne standaard(=[S]) met resp. 0,4 - 0,8 - 1,0 - 1,4 - 1,8 - 2,0 ml stockoplossing chlorogeenzuur in 100 ml, aanvullen met 80 % ethanol.

De oplossingen afdampen aan een filmverdamer (waterbad 30 °C) tot een paar ml en het residu overspoelen met eluens in een maatkolfje van 100 ml. Aanvullen, ultrafiltreren en 10 µl injecteren in de HPLC.

Deze ijkpunten bevatten 0,2 µg gentisinezuur / 10 µl en

0,04 - 0,08 - 0,10 - 0,14 - 0,18 - 0,20 µg chlorogeenzuur/ 10 µl.

Met deze gegevens een ijklijn maken waarin het gehalte chlorogeenzuur uitgezet wordt tegen de Rf waarden.

(Rf waarde = opp. chlorogeenzuur : opp. gentisinezuur)

Berekening:

De concentratie van chlorogeenzuur (µg/5 g) wordt gevonden door: interpolatie in de ijklijn en vermenigvuldiging met de verdunningsfactor (10⁴)

Voor de berekening van het gehalte in mg/kg vers materiaal dit getal vermenigvuldigen met:

$$[\text{Chl}]' = 0.2 \cdot \frac{\%DS_{\text{vers}}}{\%DS_{\text{droog}}} = \dots \text{ (mg/kg vers)}$$

Standaarddeviatie en variatiecoëfficiënt:

Monster	[Chl] (mg/kg)	Standaard Deviatie (n=5)	Variatie Coëfficiënt (%)
Aardappelschil	111.3	4.04	3.6
Aardappel (geschild)	6.9	0.3	4.4

Literatuur:

- Weever - Stageverslag - IBVL 1988 (afd.Hartmans)
- Braam, W.G.M. 1985 - "Scheidingmethode Chromatografie", Wolters Noordhof, Groningen
- Burton, W.G. 1966 - "The Potato". H.Veenman & Zonen N.V. Wageningen.
- Hasegawa, S. 1965 - "Studie on chlorogenic acid in potatoes: Effect of cold storage on changes in it", University Microfilms, Inc., Ann Arbor, Michigan.
- Rastovski et al. 1987 - "Storage of potatoes", Pudoc, Wageningen.

118b Totaal ascorbinezuur (ascorbinezuur+dehydroascorbinezuur) voor groente, fruit, aardappelen en aardappelprodukten m.b.v. HPLC.

Principe:

Ascorbinezuur (AA) en dehydroascorbinezuur (DHA) worden met oxaalzuur uit het produkt geëxtraheerd. Na filtratie van de slurry wordt de pH van het filtraat op 7 gebracht en wordt DHA gereduceerd tot AA door homocysteïne. Na een eventuele clean-up van het monster met behulp van een geactiveerde Sep-Pak C18 kolom of een geactiveerde Florisil kolom (afhankelijk van de aard van de storende componenten) en ultrafiltratie is het monster gereed voor injectie in de HPLC. De scheiding van ascorbinezuur van andere componenten geschiedt op een ion-paar reversed phase systeem met UV detectie.

Werkwijze:

Benodigheden	Apparatuur
- Wijdmonds erlenmeiers van 300 ml - Maatkolven van 250 en 25 ml - Bekerglaasjes van 25 ml - Trechters - Vouwfilters S&S 595½ - Sep-pak C18 kolommetjes, geactiveerd door te spoelen met achtereenvolgens 5 ml ethanol en 10 ml water en 2,5 ml monster. - Sep-pak Florisil kolommetjes-geactiveerd door te spoelen met achtereenvolgens 8 ml methanol, 20 ml water en 3 ml monster. - Millex filters 0,45 µm - Plastic injectiespuitjes van 10 en 5 ml - Hamilton injectiespuit van 25 µl	- Ultra Turrax mixer - pH meter - HPLC apparatuur bestaande uit: - Waters model 510 pomp met een U6K injector - Z-module met een µBondapak C18 radiale compressie kolom en een C18 guard kolom. - Waters 484 tunable UV detector op golflengte 251 nm (isosbestisch punt) - Waters 741 Data Module

Reagentia
- 9,5 % oxaalzuur oplossing (oxaalzuur p.a. Merck 495) - Methanol p.a. (Merck 6009) - 2 M KOH oplossing (Kaliumhydroxide p.a. Merck 5033) - 0,05 M Trisbufferoplossing (Tris(hydroxymethyl)-aminomethaan p.a. Merck 8382) - 0,8 % DL-Homocysteïneoplossing - <u>dagelijks vers bereiden.</u> - (DL-homocysteïne puur Fluka 53510) - L(+) ascorbinezuur p.a. (Merck 127)

Monstervoorbereiding:

Verse (groenten, fruit) aardappelen of frites in kleine blokjes snijden, zodanig, dat ze door de Ultra Turrax fijn geslagen kunnen worden. Voor deze bepaling geen gebruik maken van b.v. een Magimix om het monster te verkleinen, daar ascorbinezuur al heel snel gaat oxideren onder invloed van aanwezigheid van licht en/of zuurstof.

Afwegen in een wijdmonds erlenmeier van 300 ml:

- Verse groenten	25 g,	- Aardappelen	25 g
- Frites	25 g	- Aardappelchips	10 g
- Pureepoeder	15 g	- Jus d'Orange	10 ml
- Tomatesap	25 ml		

Toevoegen:

- 25 ml oxaalzuur 9,5 %, - 25 ml methanol, - 50 ml Milli Q water

Mixen met de Ultra Turrax, totdat een homogene slurry is ontstaan. Spoel het monster over in een maatkolf van 250 ml, vul aan met water en meng. Filtreer door een S&S 595½ vouwfilter.

Chromatografie:**Eluens:**

- 2,5 g terabutylammoniumhydrosulfaat + 55 ml methanol, aanvullen tot 1 liter met Milli Q water, daarna ultrafiltreren en ontgassen.
(Tetrabutylammoniumhydrosulfaat zur Synthese, Merck 818858)

Standaardoplossingen:

- Weeg precies 125 mg ascorbinezuur af in een maatkolfje van 100 ml en los dit op in Milli Q water (Stockoplossing).
Breng 1 ml stockoplossing in een maatkolfje van 50 ml en voeg 5 ml oxaalzuur 9,5 % en 5 ml methanol toe. Aanvullen met Milli Q water en mengen. Van deze oplossing een standaardreeks maken in de range van 0,05 tot 0,50 µg AA/10 µl. Een ijklijn maken door piekoppervlak van ascorbinezuur uit te zetten tegen de concentratie. In dit gebied is de ijklijn lineair.
Daarna is het voldoende om bij iedere serie monsters een ijkpunt mee te nemen ter controle (0,10 µg ascorbinezuur/10 µl).

Bepaling van AA:

Pipetteer 10 ml filtraat in een maatkolfje van 25 ml, vul aan en meng. Deze oplossing eventueel ontdoen van storende bestanddelen met behulp van een Sep-pak C18 (groente, fruit) of Florisil kolommetje (frites). De eerste 2,5 resp. 4 ml weggooien, de volgende ml gebruiken. De oplossing ultrafiltreren en 10 µl injecteren in de HPLC.

Bepaling van totaal AA (AA + DHA):

Pipetteer 10 ml filtraat in een beerglaasje van 25 ml. Stel de pH met 2 M KOH op 5 en daarna met 0,05 M Trisbuffer op 7. Spoel de oplossing over in een maatkolfje van 25 ml, vul aan en meng. Deze oplossing ontdoen van eventuele storende bestanddelen met behulp van een Sep-pak C18 of Florisil kolommetje. Eén ml van deze "schone" oplossing afpipetteren in een buisje van 3 ml. met ingeslepen stop, 1 ml 0,8 % homocysteïne oplossing toevoegen, goed mengen en een kwartier in het donker laten staan. De oplossing ultrafiltreren door een 0,45 µm filter en 10 µl injecteren in de HPLC.

Chromatografie:

Het eluens ultrafiltreren en ontgassen.

Flow rate: 1,5 ml/min. - 's nachts terugbrengen naar 0,2 ml/min. **Het eluens mag niet stil staan in de kolom vanwege de lage pH, dit kan schade toebrengen aan de kolom.** Wordt het systeem stil gezet, dan moet de kolom grondig gespoeld zijn met 10% methanol in water.

Bij het opstarten van het systeem moet dan 24 uur gespoeld worden met het eluens op een lage flow rate (b.v. 0,2 ml/min.) om hem weer te verzadigen met het tegenion. Het systeem is gereed voor gebruik als de basislijn weer stabiel is.

De monsters worden gemeten met een UV detector bij een golflengte van 251 nm.

Controle op storende bestanddelen en gebruik van SEP-PAK:

Het is gebleken, dat het noodzakelijk is om een achtergrondchromatogram te maken, als een nog niet eerder geanalyseerd produkt moet worden getest op vitamine C.

Daarbij als volgt te werk gaan:

Het extract bereiden zoals beschreven tot aan het punt waar de pH op 7 wordt gesteld. De pH van het extract in plaats van op 7 op 5,6 brengen. Een ascorbaatoxidase spatel (Boehringer, Mannheim) in de oplossing plaatsen en de oplossing hiermee omroeren. Na een half uur is al het aanwezige ascorbinezuur weggeoxideerd. 10 µl van deze oplossing injecteren in de HPLC en het chromatogram controleren op storende bestanddelen. Afhankelijk van de storende component deze wegvangen met een Sep-pak C18 of een Florisil kolommetje.

Voor de volgende produkten is dit reeds uitgevoerd:

Produkt	Opmerking
1. Verse aardappelen 2. Groene paprika 3. Gele paprika 4. Rode paprika 5. Spinazie 6. Jus d'Orange	GEEN STORENDE BESTANDDELEN, GEEN CLEAN-UP NODIG!
7. Tomaten 8. Verwerkte spinazie	WEL STORING - CLEAN-UP MET SEP-PAK C18
9. Frites 10. Chips 11. Pureepoeder	WEL STORING - CLEAN-UP MET FLORISIL

Berekening:

Voor de berekening van de ascorbinezuur gehalten, de uitkomsten van de monsters vergelijken met de standaardoplossing.

Opmerkingen:

- * Vanwege lichtgevoeligheid van ascorbinezuur, de gehele analyse uitvoeren in diffuus daglicht.
- * Bij het stellen van de pH op 7 voor de reactie met homocysteïne, er voor zorgen, dat de pH beslist niet hoger wordt dan 7,2 anders is een groot deel van het ascorbinezuur verdwenen.
Mocht het toch gebeuren, dan opnieuw 10 ml afpipetteren.

Gemiddelde waarden van enkele reeds geanalyseerde producten

Produkt	Gemiddelde waarde (aantal monsters) (mg vit C/100 g of 100 ml)
Aardappelen, vers	12,8 ± 0,45 (n=5)
Gekoelde frites	14,1
Chips	20,5
Pureepoeder	21,9
Witte kool	23,8 ± 0,42 (n=5)
Spinazie	57,1
Groene paprika	123,8
Gele paprika	169,1
Rode paprika	188,6
Jus d'Orange	38,1 ± 0,15 (n=5)
Tomatesap	5,9 ± 0,17 (n=5)
Appelsap	0,9
Druivesap	<0,5

Literatuur:

1. M.I.Karayanis, D.N.Samios, Ch.P.Gousetis
A study of the molar absorptivity of ascorbic acid at different wavelength and pH values. *Analytica Chimica Acta*, 93 (1977) 275-279
2. H.Rückemann
Methoden zur bestimmung von L-Ascorbinäure mittels hochleistungs-flüssigchromatography. *Z.Lebensm.Unters.Forsch.* 171,357-359 (1980)
3. J.W.Finley, E.Duang
Resolution of ascorbic, dehydroascorbic and diketogulonic acids by paired-ion reversed phase chromatography. *Journal of chromatography*, 207 (1981) 449-453
4. J.Augustin, C.Beck, G.I.Marousek
Quantitative determination of ascorbic acid in potatoes and potato products by high performance liquid chromatography. *Journal of Food Science - vol.46* (1981) 312-316
5. K.H.Moledina, J.M.Flink
Determination of ascorbic acid in plant food products by high performance liquid chromatography. *Lebensm.Wiss.u.Technol.*, 15, 351-358 (1982)
6. D.B.Dennisson, T.G.Brawley, G.L.K.Hunter
Rapid high-performance liquid chromatographic determination of ascorbic acid and combined ascorbic acid/dehydroascorbic acid in beverages. *J.Agric.Food Chem.* 1981, 29, 927-929
7. P.Wimalasiri, R.B.H.Wills
Simultaneous analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in fruit and vegetables by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 256 (1983) 368-371
8. M.J.H.Keijbets and G.Ebbenhorst-Seller
Loss of vitamin C (L-ascorbic acid) during long-term cold storage of dutch table potatoes. *Potato Research* 33 (1990) 125-130

118c Organische zuren in groenten en aardappelen mbv HPLC.**Principe:**

De zuren worden met kokend 0,05 M H_3PO_4 uit het monster geëxtraheerd. Na verdunning tot een geschikte concentratie en een clean-up van het monster met een geactiveerd Sep-pak C18 kolommetje is het monster gereed voor injectie in de HPLC.

Scheiding van de zuren geschiedt op twee H^+ geladen kationenwisselaars (in serie geschakeld), de detectie geschiedt met een LC-UV detector bij 210 nm.

Werkwijze:

Benodigdheden	Apparatuur
- Maatcilinders van 100 ml, laag model - Erlenmeiertjes van 100 ml - Trechters - Vouwfilters S&S 595½ - Sep-pak kolommetjes: Waters art.nr.51910. Aktiveren door spoelen met 5 ml methanol, gevolgd door 10 ml Milli Q water en 3 ml monster. - Plastic injectiespuiten 5 ml - Eppendorf monsterflesjes 1,5 ml	- Ultra Turrax mixer - HPLC apparatuur bestaande uit: - Waters model 510 HPLC pomp met U6K injector - Waters pre-column module met fast fruit juice inserts als guard kolom (Waters art.nr.15207) - Waters kolomoven met 2 kolommen Shodex KC 811 H^+ geladen kationenwisselaars in serie geschakeld. - Waters 486 Tunable absorbance detector - Millennium data verwerkingssysteem - Hamilton injectiespuit 25 µl geschikt voor de U6K injector

Reagentia
Milli Q water Methanol p.a. (Merck 495) Fosforzuur p.a. (Merck 573) Oxaalzuur Sigma 0-0505 Citroenzuur Sigma C-7129 DL-Appelzuur Sigma M-0875 Shikimmizuur Sigma S-5375 Fumaarzuur F-2752 DL-Pyroglutaminezuur Sigma P-0506

Monstervoorbereiding

Verse monsters worden m.b.v. vloeibare stikstof snel ingevroren en bewaard bij -20°C tot gebruik. De bevroren monsters worden zonder ontdooien tot een bevroren pulp vernalen m.b.v. een Moulinex keukenmachine. Van deze pulp 5 g, met een nauwkeurigheid van 0,01 g, afwegen (gevriesdroogde monsters 1 g) in een maatcilinder van 100 ml. Aanvullen met kokend 0,05 M fosforzuur tot 50 g. Gedurende 30 seconden mixen met een Ultra Turrax mixer op de hoogste snelheid en af laten koelen tot kamertemperatuur.

De monsters filtreren over een Whatmann GF/C glas microfiberfilter en 1 ml filtraat verdunnen met 4 ml Milli Q water. Na een clean-up stap met een Sep-pak C18 kolommetje is de oplossing gereed voor injectie in de HPLC. (injectievolume 10 µl)

Bewaard bij -20 °C is het extract minstens een week houdbaar.

Chromatografie:

De kolommen zijn H⁺ geladen kationenwisselaars-Shodex KC 811

Eluens: 0,0105 M fosforzuur (0,7 ml gec. tot 1 liter) ultragefiltreerd en ontgast m.b.v. helium

Flow rate: 0,7 ml/min.

Kolomtemperatuur: 65 °C

Kolombehandeling: Zie manual van de kolom!

Detectorstanden:

Golflengte: 210 nm.

Filter 1,0

Berekening:

Berekening geschiedt door de piekoppervlakken van het monster te vergelijken met de piekoppervlakken van standaardoplossingen.

Opmerkingen:

* Hoge gehalten ascorbinezuur en fructose in het monster stoort de analyse (ascorbinezuur tot 0,2 % - fructose tot 2,5% zijn gehalten, die kunnen voorkomen in groenten en vruchtgroenten).

Door de hierboven beschreven HPLC omstandigheden in te stellen en de integrator zo in te stellen, dat hij rekening houdt met de storing in het chromatogram, zijn de organische zuren toch goed te bepalen.

(zie: chromatogrammen)

* De Sep-pak C18 absorbeert o.a. een deel van het citroenzuur.

De absorptie is procentueel, dus kan de clean-up wel geschieden met een Sep-pak, mits de standaarden ook een clean-up behandeling hebben ondergaan.

Stockoplossingen:

Oxaalzuur : 140 mg oxaalzuur.2 aq. → 100 ml met water

Citroenzuur : 110 mg citroenzuur.1 aq. → 100 ml met water

DL-Appelzuur : 100 mg appelzuur → 100 ml met water

Shikimmizuur : 10 mg shikimmizuur → 100 ml met water

Fumaarzuur : 10 mg fumaarzuur → 100 ml met water

Pyroglutaminezuur : 100 mg pyroglutzuur → 100 ml met water

In een maatkolfje van 50 ml afpipetteren:

0,5 ml stockoplossing oxaalzuur

5,0 ml stockoplossing citroenzuur

5,0 ml stockoplossing appelzuur

0,5 ml stockoplossing shikimmizuur

0,5 ml stockoplossing fumaarzuur

0,5 ml stockoplossing pyroglutaminezuur

aanvullen tot 50 ml met eluens = oplossing B

Van oplossing B 5 ml afpipetteren in plastic reageerbuisjes, afsluiten met een plastic stopje en bewaren bij -30 °C.

Oplossing B is op deze manier bewaard minstens twee maanden houdbaar.

Voor bereiden werkstandaarden 5 ml. ontdooien.

1 ml opl.B + 4 ml eluens, clean-up met Sep-pak C18 = opl.C

2,5 ml opl.B + 2,5 ml eluens, clean-up met Sep-pak C18 = opl.D

Van beide oplossingen 10 µl injecteren.

Deze standaardoplossingen bevatten per 10 µl:

	oplossing C	oplossing D
Oxaalzuur	: 0,020 µg	0,050 µg
Citroenzuur	: 0,200 µg	0,500 µg
Appelzuur	: 0,200 µg	0,500 µg
Shikimmizuur	: 0,002 µg	0,005 µg
Fumaarzuur	: 0,002 µg	0,005 µg
Pyroglutaminezuur	: 0,020 µg	0,050 µg

Literatuur:

1. James K.Palmer and Dieter M.List
Determination of organic acids in foods by liquid chromatography.
J.Agric.Food Chem, Vol.21, no. 5, 1973 (903-906)
2. Lazaro et al.
Liquid Chromatographic Determinations of Acids and Sugars in Homolactic Cucumber Fermentations.
J.Assoc.Off.Anal.Chem., 1989, 37, 337-341
3. Holloway, Argall, Jealous, Lee and Bradbury
Organic Acids and Calcium-oxalat in Tropical Root Crops
J.Agric.Food Chem, 1989,37, 337-341
4. Picha
Organic Acid Determination in Sweet Potatoes by HPLC
J.Agric.Food Chem., 1985, 33, 743-745
5. Bushway, Bureau and Mc.Gann
Determination of Organic Acids in Potatoes by HPLC
Journal of Food science, Vol.49 (1984) 75-81

119. Bepaling van oplosbaar eiwit, totaal eiwit en vrije aminozuren.

Principe:

Hoge eiwitgehalten kunnen het eind-bakresultaat negatief beïnvloeden. De aminozuren waaruit eiwitten bestaan spelen een rol in de Maillard reactie die resulteert in te bruine frites. In het geval dat het eiwitgehalte een belangrijke parameter zou blijken te zijn, dan mag verwacht worden dat dit met name het oplosbare deel van de totale eiwitfractie is. Alleen van de oplosbare eiwitten mag worden verondersteld dat ze in de frites kunnen migreren en plaatselijk hoge concentraties bereiken. Daarom wordt niet alleen een schatting gemaakt van het totaal stikstofgehalte (hetgeen in het algemeen tevens een afspiegeling is van het totale eiwitgehalte), maar wordt tevens het gehalte aan oplosbaar eiwit en het gehalte aan vrije aminozuren bepaald.

Werkwijze:

Het te analyseren gevriesdroogde aardappelweefsel wordt vermengd met een Tris.HCl buffer pH=8,0 en 500mM NaCl. Na 5 minuten mengen wordt dit mengsel gecentrifugeerd gedurende 20 minuten bij 15000g. In het heldere supernatant wordt het eiwitgehalte bepaald zoals beschreven door Bradford [Anal. Biochem.72(1976);248] met BSA als standaard. De verhouding gevriesdroogd materiaal:buffer is als 1 gram + 5 ml.

Het totale eiwitgehalte wordt bepaald middels de Kjeldahl-methode. Met deze methode wordt het totale stikstofgehalte bepaald. Dit is in vele gevallen een goede maat voor het totale eiwitgehalte gebleken en is een algemeen geaccepteerde methode. Alleen in die gevallen waar een niet-eiwit stikstofhoudende verbinding in voldoende hoge concentraties voorkomt kan deze methode tot een overschatting van het eiwitgehalte leiden. Bij de aardappel zijn er echter geen aanwijzingen dat dit het geval zou kunnen zijn. De destructietijd is 45 minuten bij 420°C in aanwezigheid van geconcentreerd zwavelzuur en katalysatoren; het monster wordt zo volledig gedestrueerd. Er wordt uitgegaan van 1 en 2 gram gevriesdroogd materiaal. Bij een afwijking van >3% tussen deze duplo's wordt de bepaling opnieuw in duplo uitgevoerd.

De vrije aminozuren worden gemeten als ninhydrin-positieve componenten in hetzelfde supernatant waarin ook de oplosbare eiwitten zijn gemeten, met dit verschil dat eerst de aanwezige eiwitten worden verwijderd door een trichloorazijzuur (TCA)-precipitatie; de aminozuren worden in het supernatant gemeten. De procedure is als volgt:
≤0,1 ml monster wordt gebracht bij 1,0 ml ninhydrine oplossing (Sigma) en goed gemengd. Vervolgens 20 minuten in een waterbad van 100°C. Toevoegen van 5ml 50% ethanol, goed mengen en 15 minuten bij kamertemperatuur laten staan. De absorptie bij 570nm geeft de ninhydrine-positieve fractie. L-Alanine is gebruikt als standaard.

De gehalten worden uitgedrukt in mg/g FW (119[1 t/m 3]).

120. Bepaling van de gevoeligheid van aardappelweefsel voor pyrofosfaat.

Principe:

Eventuele niet-enzymatische grauwwerking van voorgebakken frites kan teruggedrongen worden door dippen van de geblancheerde strips in een pyrofosfaatoplossing. De gevoeligheid van aardappelweefsel voor pyrofosfaat wordt afgeleid uit de visuele beoordeling door produktexperts van voorgebakken frites, die voor het bakken gedipt werden in oplossingen met verschillende pyrofosfaatconcentraties.

Werkwijze:

Zes baden (inhoud 20 l) zijn voor de helft gevuld met leidingwater op kamertemperatuur. In vijf ervan worden oplopende pyrofosfaatconcentraties gebracht, beginnend bij 2 g/l tot en met 10 g/l met intervallen van 2 g/l. In het zesde bad wordt geen pyrofosfaat toegevoegd.

Uit een representatief monster worden 5 kg aardappelen standaard geschild (zie pag. 5) en in de lengterichting in frites-staafjes van 10x10 mm gesneden met een SLITMASTER-snijmachine. Na goed mengen wordt hiervan een monster van 500 g genomen, in een monsterpot gedaan en gewassen onder koud stromend water. Daarna worden de staafjes in een netje gedaan en 5 min. verhit in een blancheur, gevuld met leidingwater van 80°C. Vervolgens worden de staafjes in een pyrofosfaatbad gedurende 20 sec. ondergedompeld. Het aanhangende vocht wordt afgeschud en de frites worden 4 min. voorgebakken op 140°C. Na, door schudden, het meeste vet van het monster te hebben verwijderd, wordt het monster uitgespreid op een RVS-plaat en gekoeld bij 4 °C.

Deze procedure wordt herhaald, telkens met dippen in een verschillend bad.

Na koelen wordt de gevoeligheid van aardappelweefsel voor pyrofosfaat nagegaan, door elk monster dat werd gedipt in een bepaalde pyrofosfaatconcentratie te beoordelen op grauwwerking. Deze beoordeling gebeurt in 6 klassen, gaande van klasse 1 bij totale afwezigheid van een grauwe kleur, tot klasse 6 voor zeer zwaar grauwwerkte frites.

200. Structuur/stevigheid; vorm en grootte van de cellen; Microscopische bepaling

Op dit moment is geen snelle en eenvoudige methode voorhanden om de celgrootte microscopisch te kwantificeren. Daarnaast speelt het probleem dat de celgrootte door het weefsel heen sterk kan variëren in grootte.

Tijdens het onderzoek is deze bepaling niet uitgevoerd.

201. Celgrootte bepaling

Principe:

Endo-PG breekt de middenlamel van de aardappelcellen af, waardoor een suspensie van losse intacte cellen ontstaat. Van deze suspensie wordt vervolgens m.b.v. Laserdiffractie de celgrootte-verdeling van de suspensie bepaald. Het gemiddelde wordt genomen als maat voor de celgrootte.

Werkwijze:

Aardappelen (5 kg = ca. 40 knollen) worden geschild m.b.v. een messenschiller en gesneden in blokjes van 1·1·1 cm met de Hobart snijmachine. Uit dit materiaal worden 100 gram vierkante blokjes geselecteerd.

Vervolgens worden deze blokjes met demiwater afgespoeld. De blokjes worden in een wijdhals-erlenmeyer van 500ml gebracht. De erlenmeyers staan in een schudwaterbad ($T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$) en bevatten reeds 160 ml 0.05M citraatbuffer pH4. Nadat de temperatuur in de erlenmeyers weer $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ is, wordt 1.2 gram Rohament P in de erlenmeyers gedaan. De erlenmeyers worden geschud met een constante snelheid van 180 rpm, gedurende 1.5 uur. De erlenmeyers worden over een zeef leeggegoten en de celsuspensie opgevangen in een schaal. Het gewicht van het niet gemacereerde weefsel wordt na afspoelen bepaald.

De celsuspensies worden in afwachting van verdere analyse ingevroren m.b.v. vloeibare stikstof en bewaard bij $T=-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ of $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Meting:

De celgrootteverdeling van twee verschillende maceraties worden in duplo bepaald met behulp van het Laserdiffractie apparaat: Sympatec-Helos-apparatuur; 200 mm lens; density 1.09 g/cm; geen sonicatie; roersnelheid meetcel op 8; zoveel monster aan 400 ml water toevoegen totdat c-opt ongeveer 10% is.

Celgrootte 201[1] = "x50"-waarde (μm)

Benodigdheden:

- Rohament P (Rohm GmbH) activiteit: $3,5 \times 10^6$ nmol/min.g
- 0.05M NaCitraatbuffer pH4

Schudwaterbad: B. Braun Infors HT. Type WTR-1; Schudsnelheid 180 rpm, temp $40\text{ }^{\circ}\text{C}$.
erlenmeyers: wijdhals 500ml Rasotherm-jenaglas bestelcode RovaMavi 1.08.06

201[2] Maceratiesnelheid

Principe:

Endo-PG breekt de middenlamel van de aardappelcellen af, waardoor een suspensie van losse intacte cellen ontstaat. De hoeveelheid aardappelmateriaal die in suspensie gaat (in de maceratietijd) is het maceratiepercentage.

Werkwijze:

Aardappelen (5 kg = ca. 40 knollen) worden geschild m.b.v. een messenschiller en gesneden in blokjes van 1·1·1 cm met de Hobart snijmachine. Uit dit materiaal worden 100 gram vierkante blokjes geselecteerd (G_0).

Vervolgens worden deze blokjes met demiwater afgespoeld. De blokjes worden in een wijdhals-erlenmeyer van 500ml gebracht. De erlenmeyers staan in een schudwaterbad ($T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$) en bevatten reeds 160 ml 0.05M citraatbuffer pH4. Nadat de temperatuur in de erlenmeyers weer $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ is, wordt 1.2 gram Rohament P in de erlenmeyers gedaan. De erlenmeyers worden geschud met een constante snelheid van 180 rpm, gedurende 1.5 uur. De erlenmeyers worden over een zeef leeggegoten en de celsuspensie opgevangen in een schaal. Het gewicht van het niet gemacereerde weefsel (G_e) wordt na afspoelen bepaald. De celsuspensies worden in afwachting van verdere analyse ingevroren m.b.v. vloeibare stikstof en bewaard bij $T=-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ of $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Berekening:

De maceratiesnelheid wordt berekend door het gewichtverschil te meten voor en na de maceratietijd (1.5 uur), waaruit het percentage maceratie volgt:

$$\text{Maceratie\%} = 201[2] = \frac{G_0 - G_e}{G_0} \cdot 100\%$$

Benodigdheden:

- Rohament P (Rohm GmbH) activiteit: $3,5 \times 10^6$ nmol/min.gram RohP
- 0.05M NaCitraatbuffer pH4

Schudwaterbad: B. Braun Infors HT. Type WTR-1; Schudsnelheid 180 rpm, temp $40\text{ }^{\circ}\text{C}$.
erlenmeyers: wijdhals 500ml Rasotherm-jenaglas bestelcode RovaMavi 1.08.06

(VOOR VERGELIJKING VAN DE MACERATIESNELHEDEN IS HET ABSOLUUT NOODZAKELIJK DAT HET SCHUDDEN VAN DE ERLNMEYERS OP DEZELFDE MANIER PLAATSVINDT: EEN ROTEREND BAD EN GEBRUIK VAN DEZELFDE ERLNMEYERS IS VEREIST)

202. Stevigheid; Instron shear.

Principe:

De gemiddelde stevigheid van een partij rauwe aardappelen wordt bepaald in een Kramer shear cel die onderdeel is van een Instron, waarmee de kracht wordt bepaald die nodig is om aardappelweefsel te vervormen tot het kapot is. Deze kracht is een maat voor de hardheid van de aardappels.

Werkwijze/Benodigdheden/Meting:

Uit een partij worden aselect 18 rauwe aardappels gehaald en standaard geschild (zie pag. 5). Hiervan worden blokjes van 10x10x10 mm gesneden. Honderd gram aardappelblokjes worden vervormd in de Kramer shear cel, die verbonden is aan een Instron duw-/trekbank. De daarvoor benodigde kracht wordt geregistreerd. Snelheid: 100 mm·min⁻¹. Krachtopnemer: 5000 Newton. Bepalingen worden verricht aan versgesneden proefstukjes. De proef wordt 3 maal per partij herhaald.

Berekening:

Berekend worden de maximaal benodigde kracht, 202[2]; de indrukking bij de maximale kracht, 202[3]; de beginhelling kracht/indrukking, 202[1] en de breukenergie, 202[4]. 202[1] wordt uitgedrukt in N/mm; 202[2] in N; 202[3] in mm en 202[4] in J.

203. Stevigheid; bepaling uniaxiale compressie aan rauwe aardappel.

Principe:

De hardheid, stevigheid en brosheid van afzonderlijke aardappels wordt bepaald door stukjes rauw weefsel samen te drukken tot breuk.

Werkwijze:

Uit een rauwe aardappel wordt m.b.v. een holle boor en een 'eisnijder' een cilindervormig proefstuk gesneden met een hoogte van 10 mm en een doorsnede van 10 mm. Het proefstuk moet zo mogelijk alleen parenchymweefsel bevatten en direct na snijden gebruikt worden. Een proefstuk wordt rechtopstaand gecompriëerd m.b.v. de Instron duw/trekbank voorzien van vlakke compressieplaten, waarbij de benodigde kracht wordt geregistreerd. De compressiesnelheid is 10 mm/min, de krachtopnemer heeft een maximaal bereik van 1000N. Per partij worden er 10 metingen gedaan, elk uit een aparte aardappel.

Berekening:

Berekend worden:

- de Young's modulus, E [$\text{MN}\cdot\text{m}^{-2}$], uit de helling van kracht versus indrukking. Dit is een maat voor de stevigheid van het weefsel; 203[1].
- de breekspanning, σ_{br} [$\text{MN}\cdot\text{m}^{-2}$]. Deze geeft de overall spanning in het materiaal aan waarbij breuk optreedt; 202[2]
- de relatieve vervorming bij breuk, ϵ_{br} [-]. Dit is de relatieve indrukking bij breuk van het materiaal; 203[3].
- de breukenergie, 203[4] in mJ, de energie tot het moment van breken.

204. Stevigheid; Bepaling hardheid

Principe:

De hardheidsmeter bepaald de hardheid van afzonderlijke (stukjes) rauwe aardappel.

Werkwijze:

Cylidervormige proefmonsters, doorsnede 10 mm, hoogte 10 mm, worden uit het parenchym van de aardappel gesneden. In de hardheidsmeter wordt een proefstuk gedurende 7 seconden belast met een kracht van 20 lbs (= 88,96 Newton). De verplaatsing van de plunjer wordt gemeten.

Berekening:

De verhouding kracht/verplaatsing is een maat voor de hardheid van de aardappel. Bepalingen worden verricht aan versgesneden proefstukken. Per partij worden er 10 metingen gedaan, elk uit een aparte aardappel. De parameter is kracht/verplaatsing (MN/m^2)

205. Bepaling van breukenergie.

Principe:

De voor breuk van rauw aardappelweefsel benodigde energie wordt bepaald m.b.v. wig-of draadexperimenten.

Werkwijze:

Een proefstukje rauwe aardappel (10x10x10 mm) wordt d.m.v. een wigje met een hoek van 10 graden doormidden geklieft of met een draad doorgesneden van 0.1 mm doorsnede. De wig of draad is bevestigd aan een duw/trekbank (Instron) met een krachtopnemer van 100N. De snijsnelheid is 4 mm/min. Indien het aardappelweefsel voor de wig (draad) uit breekt met een snelheid die gelijk is aan de snelheid waarmee de wig (draad) door het aardappelweefsel gedreven wordt, is de hiervoor benodigde kracht in de tijd constant. Uit deze kracht kan de breukenergie, R_s , voor het aardappelweefsel berekend worden als:

$$R_s = \text{kracht/breedte proefstuk } [\text{J}\cdot\text{m}^{-2}]$$

Deze energie wordt verondersteld een maat te zijn voor de samenhang van het aardappelweefsel. Hiermee worden vervormingen, zoals deze optreden bij onder andere snijden en bijten gesimuleerd, en de daarbij benodigde energiën gemeten.

Bepalingen worden verricht aan versgesneden proefstukken. Per partij worden er 10 metingen gedaan, elk uit een aparte aardappel.

De berekende parameters zijn:

205[1]: breukgedrag met wig - maximale kracht, N

205[2]: breukgedrag met wig - indrukking bij maximale kracht, mm

205[3]: breukgedrag met wig - breukenergie, J/m²

Indien de draadmethode wordt gebruikt, i.p.v. een wig, dan zijn de parameters in analogie met het bovenstaande 216[1], 216[2] en 216[3].

206. Bepaling van de diffusie/permeabiliteit van aardappelweefsel; doorlaatbaarheid van aardappelweefsel voor water en zout.

Principe:

Wordt een stukje rauw aardappelweefsel ondergedompeld in een zoutoplossing, dan zal tussen beide fasen een uitwisseling plaatsvinden van water en zout. Hierdoor zal het weefselgewicht wijzigen tot zich, voor de migreerbare componenten, een dynamisch evenwicht tussen weefsel en oplossing heeft ingesteld. Door voorafgaand blancheren neemt de weefseldoorlaatbaarheid toe en wordt een meer uitgesproken gewichtsverandering waargenomen.

De snelheid waarmee dit proces plaats vindt, is in deze proefopzet alleen afhankelijk van de weerstand van het aardappelweefsel. De meting wordt in een volkomen gestandaardiseerde opzet herhaald met rauwe of geblancheerde monsters afkomstig van verschillende rassen, en de snelheid waarmee hun gewicht verandert kan als maat genomen worden voor de weefseldoorlaatbaarheid voor water en zout.

Een bad met leidingwater op 20 ± 1 °C is door (keuken-)zouttoevoeging op een soortelijk gewicht (SG) van 1100 kg/m^3 gebracht (nagemeten met een aereometer, schaalverdeling 1 kg/m^3). Dit bad is geplaatst onder een tafel met daarop een elektronische balans. Aan deze balans hangt een zeefmandje dat tevens in het zoutbad is ondergedompeld. Ook is de balans elektronisch verbonden met een computer waarop het "HOP"-meetprogramma actief is. Met dit programma wordt gedurende een bepaalde periode 1 gewichtsmeting per seconde geregistreerd.

Werkwijze:

Deze procedure is uitgevoerd t/m het derde verwerkingstijdstip.

Uit een representatief monster worden 20 aardappelenknollen standaard geschild (zie pag. 5) en met een HOBART-snijmachine worden blokjes aardappelweefsel van $10 \times 10 \times 10 \text{ mm}$ gesneden. De blokjes worden 2 minuten onder koud stromend leidingwater gewassen. Na uitlekken (1 minuut) van de blokjesbulk worden hieruit 2 monsters genomen :

- een monster van exact 250 g blokjes (1 g nauwkeurig) wordt in een zeefmandje gedaan. Het "HOP"-programma wordt opgestart en het gevulde mandje wordt hangend aan de balans, voorzichtig in het zoutbad gedompeld. Een eventuele slingerbeweging van het mandje moet onmiddellijk worden gedempt. Na 2 min meten wordt de registratie beëindigd. De helling van de curve, verkregen door de geregistreeerde gewichten als functie van de tijd in grafiek uit te zetten, is een maat voor weefseldoorlaatbaarheid van het rauwe weefsel.
- een monster van ongeveer 1 kg blokjes wordt geblancheerd op 80 °C gedurende 5 min. in schoon water en afgekoeld onder koud stromend leidingwater. Na uitlekken wordt eenzelfde procedure als voor het rauwe monster herhaald. De helling van de hier verkregen curve is een maat voor de weefseldoorlaatbaarheid van het geblancheerde weefsel.

De verkregen parameters zijn 206[1], 206[2] en 206[5] voor vers materiaal en 206[3], 206[4] en 206[6] voor geblancheerd materiaal. Deze parameters worden berekend vanuit de fitting van de data met de vergelijking: $\text{gewichtsverandering} = a + b\sqrt{(\text{tijd})}$.

Parameter a is afhankelijk van het droge stofgehalte en b hangt samen met de snelheid van uitwisseling van water en zout in het weefsel. Parameters 206[1] en 206[3] zijn a in de vergelijking (gram) en parameters 206[5] en 206[6] zijn de parameters b (gram/sec). De parameters 206[2] en 206[4] zijn de parameters b per oppervlakte-eenheid, g/sec.dm².

207. Bepaling van de diffusie/permeabiliteit van verouderend aardappelweefsel.

Toenemende permeabiliteit van weefselschijfjes is een gegeven bij veroudering van het aardappelweefsel. De mate van permeabiliteit is een maatgevend voor de mate van (macroscopisch onzichtbare) veroudering.

1. snijd een weefselschijfje uit het merg van de aardappel (vers)
 2. plaats het in een (voorgewogen) epje met 2 ml MQ
 3. weeg het schijfje (in de ep)
 4. neem een $t=0$ monster, geschikt voor HPLC kationen analyse (evt door Sep-pak)
 5. neem op diverse tijdstippen een monster en analyseer
- NB Pas eventueel volumina aan, maar denk dan aan zeer schoon glaswerk (controles!!)
6. zet de waarnemingen uit in een grafiek en bepaal de de uittredingskarakteristieken van de diverse ionen.

208. Grootte en vorm aardappelen; standaard maatsortering.

De partijen worden gesorteerd op zeven met een maaswijdtes van 40 t/m 70mm met intervallen van 5mm.

Uit deze maatsortering worden de volgende kentallen berekend:

208[1] gemiddelde knolgrootte van knollen <70mm

208[2] percentage knollen met maat >70.

209. Grootte en vorm van aardappelen; computer beeld analyse.

Principe:

Visueel uitwendige kenmerken van het uitgangsmateriaal bepalen onder andere de geschiktheid van de aardappelen voor verwerkingsmogelijkheden. Grootte, vorm en defecten van het uitgangsmateriaal zijn van belang. De beoordeling van uitwendig visuele aardappelkwaliteit is nu nog grotendeels gebaseerd op een subjectieve meting. Hoewel de kleurindex als belangrijke kwaliteitsparameter genormeerd is, heeft dit nog niet geleid tot een automatisch systeem.

Werkwijze:

Voor de opnamen is een belichtingsopstelling nodig die voldoet aan de eisen van de toepassing. Voor het meten van kleur en -afwijkingen worden zware eisen gesteld aan de belichting. Het is het van belang dat de belichting uniform is over het beeldvlak, het juiste golflengtekenmerk heeft en stabiel is onder invloed van wisselende omgevingsomstandigheden. Een belichtingskast met hoog-frequent TL-verlichting en automatische terugkoppeling van de lichtsterkte met een meetcel is gebouwd voor het belichten van een oppervlak van ca. 0,5x0,5 m.

Een matrix kleuren CCD-camera wordt toegepast voor het maken van de opnamen van het produkt. Voor het ijken van de camera is een speciaal calibratieprotocol opgezet. Door meting van twee standaard kleurenplaatjes wordt de kleurruimte vastgelegd, zodat kleurwaarden altijd herleid kunnen worden tot de oorspronkelijke instellingen.

De te meten kenmerken zijn:

- projectie oppervlak (in mm²).
- lengte van de aardappel (in mm); gemeten in de lengte richting.
- breedte van de aardappel (in mm); gemeten loodrecht op de lengte as.
- lengte/breedte verhouding; is een maat voor de geschiktheid voor de fritesindustrie.
- kleur (gemiddelde RGB waarde)

210. Bepaling kooktype en afkookcijfer.

Principe:

Deze parameters worden afgeleid uit de visuele beoordeling van gekookte aardappelen door produktexperts.

Werkwijze:

Uit een representatief monster worden 8 knollen standaard geschild (zie pag. 5) en ontpit. Op een elektrische kookplaat wordt in een 2 liter pan met treefje en deksel 0.5 l leidingwater tot koken gebracht. Vervolgens worden maximaal 4 aardappelen op het treefje gelegd en gedurende 30 min onder gesloten deksel gestoomd. Daarna worden ze op een bord geplaatst en direkt visueel beoordeeld op kooktype. Deze parameter beschrijft de textuur van de gekookte aardappel in 5 klassen, gaande van klasse 1 voor een niet melige en vaste textuur, tot klasse 5 voor een zeer melige en losse aardappel.

Berekening:

Is het kooktype van de 8 aardappelen bepaald, dan kan het afkookcijfer worden berekend. Dit wordt verkregen door optellen van de produkten van ieder klasse-rangnummer met het bijbehorend aantal aardappelen en het verkregen getal te delen door het totaal aantal beoordeelde aardappelen.

De parameter 210[1] is het afkookcijfer en 201[2] grauwwerking beoordeeld zoals beschreven voor pyrofosfaatgevoeligheid (methode 120, pagina 42), 2 minuten na het stomen.

211. Bepaling van de turbiditeit van kookwater.

Principe:

Valt een lichtstraal in op een waterige suspensie, dan wordt licht verstrooid door reflectie op de gesuspendeerde deeltjes. Dit verschijnsel heet turbiditeit en kan gemeten worden met de HACH turbidimeter. Voor eenzelfde lichtstraal invallend op gelijkwaardige suspensies is de gemeten turbiditeit evenredig met de concentratie aan gesuspendeerde deeltjes. Een turbiditeitsmeting aan kookwater geeft dus informatie over de hoeveelheid weefselmateriaal dat losgemaakt werd tijdens de hittebehandeling. Zo kan turbiditeit als een maat voor de gevoeligheid voor thermische desintegratie van aardappelweefsel worden gebruikt.

Werkwijze:

Van een representatief monster wordt 20 aardappelen standaard geschild (zie pag. 5) en in blokjes van 10x10x10 mm gesneden met de HOBART-snijder. Hiervan wordt een monster van 100 g genomen en op een zeef gedaan. Gedurende 30 sec. worden deze blokjes onder stromend leidingwater gewassen, waarna men ze gedurende 2 minuten laat uitlekken. In een beker (inhoud 2 l) met thermometer wordt 1,2 l gedemineraliseerd water tot koken gebracht. Hierin wordt het volledige monster overgebracht en gedurende 10 min. gekookt. Daarna wordt door een zeef het kookwater opgevangen en wordt de turbiditeit ervan in duplo met een volgens voorschrift gecalibreerde HACH turbidimeter gemeten. De parameter 211 is de gemiddelde waarde van de turbiditeit (in NTU-units) van de duplo's.

212. Bepaling T100-waarde.

Principe:

Bij het koken van vers aardappelweefsel in water neemt in eerste instantie het weefselgewicht toe door waterabsorptie. Geleidelijk aan wordt echter weefselmateriaal losgekookt, waardoor op een bepaald ogenblik de gewichtstoename overgaat in een continue gewichtsafname. De totale kooktijd in minuten waarbij het gewicht eerst toeneemt en dan daalt tot het oorspronkelijke monstergewicht, wordt de T100-waarde genoemd. Deze is een maat voor de snelheid van desintegratie van aardappelweefsel tijdens koken. In de meting wordt dit gedaan door het gewichtsverlies bij toenemende kooktijd te bepalen.

Werkwijze:

Van een representatief monster wordt 20 aardappelen standaard geschild (zie pag. 5) en met een HOBART-snijmachine in schijven van 1,3 mm versneden. De schijven worden gesneden in plakjes van 10x10x1,3 mm, die daarna goed worden gemengd.

In RVS-bekers (inhoud 2 l) wordt 1,2 l gedemineraliseerd water tot koken gebracht op een elektrische CERAN-plaat. Hierin wordt dan ongeveer 100 g (G1, op 0,1 g nauwkeurig) rauwe aardappelplakjes gedaan en onder kontinu roeren (750 rpm) gedurende 1 minuut gekookt.

Na koken wordt de inhoud van de beker op een standaardzeef ("U.S. standards nr 10" of "DIN 4188 2.00 mm") gebracht, met vers water gespoeld en na uitlekken gewogen (G2, 0.1 g nauwkeurig). Met onderstaande formule wordt dan de gewichtsverandering (ΔG) berekend:

$$\Delta G = (G2 - G1) / G1$$

Hetzelfde wordt herhaald voor opeenvolgende kooktijden (2, 3, 4, ... min.).

Door tegen de diverse kooktijden (in minuten) de bijbehorende ΔG -waarde grafisch uit te zetten kan een kookcurve worden geconstrueerd. Wordt in deze grafiek een horizontale lijn getrokken door $\Delta G=0$, dan geeft een projectie op de tijdsas van het snijpunt van deze lijn met de curve de T100 waarde (min).

213. Bepaling gelatinisatie-enthalpie m.b.v. DSC-calorimetrie.

Principe:

In de 2 afzonderlijke oventjes van een DSC-apparaat doorlopen resp. een monster gehomogeniseerd aardappelweefsel en een thermisch inerte referentie eenzelfde temperatuurprogramma. Wordt het temperatuursverschil tussen beiden gelijk aan nul gehouden, dan zullen faseovergangen in het monster worden geregistreerd als verschillen in warmtestroom tussen monster en referentie.

Werkwijze:

Van een representatief monster wordt 3 kg aardappelen standaard geschild (zie pag. 5), waarna van iedere aardappel een kwart wordt gesneden en verzameld in een monsterpot. Het geheel wordt fijn gemalen m.b.v. de Magi-mix keukenmachine, waarna een 30 g wordt overgebracht in een monsterpotje (volume 100 ml). Dit wordt 2 min. gehomogeniseerd met een YSTRAL X 1020 Ultra-Turrax, waarvan het toerental wordt getemperd door de bijbehorende T 1500 frequentieomvormer op stand 7 in te stellen.

Meting:

Indien nodig wordt eerst het Perkin-Elmer DSC-apparaat gecalibreerd met indium op de scansnelheid van 20 °C/min.

In een roestvrij stalen cupje wordt ± 30 mg gehomogeniseerd weefsel gedaan, m.b.v. een fijn puntig voorwerp gelijkmatig over de bodem uitgespreid en op een getarpeerde analytische balans afgewogen (0,01 mg nauwkeurig). Het cupje wordt dan zo snel mogelijk afgedekt met bijbehorend deksel voorzien van een dichtingsringetje. Het geheel wordt in elkaar "geschoven" met een cupjestang. Het cupje wordt dan gebracht in de monsteroven, die na sluiten op 5 °C wordt geconditioneerd. Vervolgens wordt een temperatuurprogramma afgewerkt, waarbij wordt gescand van 5 tot 100°C met een snelheid van 20°C/min.

Uit de verkregen endotherme piek wordt:

1. de gelatinisatie-enthalpie berekend per gram vers aardappelmonster; 213[1].
2. De onset temperatuur bepaald, te weten de temperatuur waar de gelatinisatie begint; 213[2].

214. X-ray diffraction

Uit de literatuur blijkt dat alle niet genetisch gemanipuleerde aardappelvariëteiten onderling eenzelfde X-ray diffractiepatroon van hun natieve, thermisch onbehandelde zetmeel vertonen. Het betreft hier de zogenaamde "B-structuur", welke specifieke pieken in zijn patroon laat zien bij resp. volgende waarden van de afbuigingshoek 2θ : 5, 15, 17, 19, 22 en 24° .

Uit een eerste analyse van twee extremen in droge stofgehalte bleken de verschillen in de spectra minimaal. Daarom is deze analyse in het verdere onderzoek achterwege gelaten.

215. Beoordeling van chips.

Principe:

Na chips op een gestandaardiseerde wijze te hebben bereid, wordt door productexperts sensorisch de textuur beoordeeld. Tevens wordt de kleur met behulp van de E.A.P.R. (European Association of Potato Research)-kleurenkaart vastgesteld.

Werkwijze:

Van een representatief monster wordt 20 knollen aardappelen standaard geschild (zie pag. 5) en m.b.v. de HOBART-chipssnijder in schijfjes van 1,2 mm gesneden. Na goed mengen wordt hiervan 170 g afgewogen. Dit monster wordt 2 min. gespoeld in koud stromend water, waarna aanhangend water wordt afgeschud.

De schijfjes worden vervolgens bij een baktemperatuur van $175\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ in arachideolie (aardnotenolie) gebakken. Om een uniform bakproces van alle schijfjes te bevorderen, moet regelmatig in de olie worden geroerd. Het bakproces wordt beëindigd zodra de olie niet meer opborrelt (na 1,5 - 2 min.).

Aanhangend olie wordt door schudden verwijderd, waarna men de chips laat afkoelen. De chipskleur wordt daarna volgens de E.A.P.R.-kleurenkaart in 9 klassen ingedeeld, gaande van klasse 1 voor zeer donkere chips, tot klasse 9 voor een zeer lichte chipskleur. De omstandigheden van de beoordeling staan beschreven in methode 113, Bepaling Kleurindex. Vervolgens wordt sensorisch (proeven + visueel) de textuur beoordeeld in 5 klassen, gaande van klasse 1 voor zeer zachte chips, tot klasse 5 voor een zeer harde textuur.

300. Bepaling Peroxidase-activiteit

Principe:

In het algemeen is er een verdeling in alkalische (hoge IEP) en zure (lage IEP) peroxidases. De bepaling van peroxidases is gebaseerd op de reductie van H_2O_2 en de oxidatie van het co-substraat. De oxidatie van het co-substraat (guaiacol) veroorzaakt een kleurverandering welke gekwantificeerd kan worden (absorptie bij een golflengte).

Werkwijze:

Chemicalien:

Guaiacol
- 0.1M Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 (pH 6.5) - 0.15% H_2O_2 oplossing (450ul 30% /100ml) - 50 mM Guaiacol oplossing [weeg 124 mg (zuurkast !), verwarm langzaam totdat al het materiaal is gesmolten. Voeg tijdens roeren en verhitting 20 ml water toe totdat al het materiaal is opgelost (1 week bruikbaar).

Monstervoorbereiding:

Ongeveer 200 mg gevriesdroogd aardappelmateriaal (nauwkeurig wegen) wordt samen met 2 ml ijskoude 0.1M fosfaatbuffer pH 6.5 ($T=0^\circ C$) drie maal gehomogeniseerd gedurende 15 seconden met een Vortexmixer. Wachtijd tussen de homogenisaties is 15 minuten; monsters worden op ijs bewaard. Centrifugeer (10 min, 10.000 g) en gebruik de supernatant voor het bepalen van de POD activiteit. Zonodig worden de supernatanten ingevroren mbv vloeibare stikstof en bewaard bij $-50C$.

Meting:

Guaiacol
Mix in een cuvet de volgende oplossing: - 1.6 ml fosfaat buffer - 0.1 ml guaiacol oplossing - 200 ul monster (meer of minder nodig, dan compenseren met hoeveelheid buffer) - 0.1 ml H_2O_2-oplossing Bepaal gedurende 1 minuut de absorptie bij - 420 nm Gestreefd wordt naar een Abs-waarde 0.3 na 1 min (of 0.5 na 2min). De hoeveelheid monster kan variëren van 80 tot 300 ul. De helling wordt berekend over tenminste 10 sec en over de optimale snelheid, eventueel na een lag-phase. Bij monsters met slechts rest-activiteit kan de lag-phase zelfs enkele minuten zijn!

Berekening:

De peroxidase activiteit kan worden berekend uit de helling van de absorptie toename.

Eén (1) Unit = 0.001 $\Delta A/\text{min}$.

Activiteit=(dA per min)*(1000/Vmonster)*(1/100)*1000=dA/min.g gevriesdr.mat.

Literatuur:

(Lobarsky & Huystee (1982). Plant Science Letters 26: 39-46

301. Bepaling van de Polyphenoloxidase (PPO) activiteit

Principe:

PPO's kunnen de oxidatie van mono- en dihydroxyfenolen tot de corresponderende chinonen katalyseren. In deze bepaling wordt de activiteit gemeten m.b.v. dihydroxyfenylalanine (DOPA). Uit het chinon ontstaat vervolgens dopachroomrood dat polymeriseert tot melanines. Het rode tussenproduct wordt in deze methode gekwantificeerd door middel van een spectrofotometrische bepaling. In de meeste planteweefsels komen twee typen PPO's voor: de laccasen en de catecholoxidasen (ook wel tyrosinase genoemd). In deze beschrijving wordt alleen de assay voor de actieve tyrosinase gegeven, omdat in aardappelen alleen deze vorm voorkomt. In andere produkten komt ook een niet-actieve vorm van tyrosinase voor, die bepaald wordt met SDS in de assay.

Werkwijze:

Reagentia

- Buffer A: 100 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, pH 6.5
- Buffer B: 18.8 mM L-DOPA in buffer A (185.3mg/50ml (MW 197.2); oplossen door verwarming). De eindconc in de cuvet moet 15mM zijn.

Monstervoorbereiding

Ongeveer 200mg gevriesdroogd aardappelmateriaal (nauwkeurig wegen) wordt in 2 ml ijskoude buffer A gehomogeniseerd mbv een Vortexmixer. Het homogeniseren gebeurt 3 keer gedurende 15 seconden met een wachttijd van 15 minuten. De monsters worden koud gehouden op ijs. Het homogenaat afcentrifugeren (10 min, 10000 g, 4C) en op het supernatant wordt de bepaling uitgevoerd. Zo nodig wordt het supernatant ingevroren mbv vloeibare stikstof en bewaard bij -50C.

Actief PPO (voor aardappelen)

Buffer en substraat in waterbad van 25C.

Meng in een plastic cuvet van 1 ml:

- 800 ul 18.8mM L-Dopa verzadigd met lucht
- 100 ul buffer A verzadigd met lucht
- 100 ul homogenaat, meer/minder nodig dan compenseren met hoeveelheid buffer

Meng goed en meet de absorptie bij 478 nm gedurende 1 minuut . Gestreefd wordt naar een dA/min van 0.2 tot max 0.4. De hoeveelheid monster kan variëren van 3 ul tot het maximum 200ul. De helling wordt berekend over 10 sec (soms over slechts 5sec) en over de optimale snelheid, eventueel na een lag-phase.

Berekening

Bepaal de helling van de toename van de absorptie bij 478 nm ($\Delta A/\text{min}$).

De activiteit van actief PPO wordt als volgt berekend:

$\text{activiteit} = (\text{dA per min} / E * 60) * (V_{\text{cuvet}} / V_{\text{monster}} * \text{conc}) * 1000000 = \text{ukat/g gevriesdr. materiaal}$

$E = \text{de molaire extinctiecoefficient} = 3313$

$V_{\text{cuvet}} = 1 \text{ ml}$

$V_{\text{monster}} = \text{variabel (ml)}$

$\text{conc} = 200 \text{ mg} / 2 \text{ ml} = 100 \text{ g/l}$

302. Bepaling van de pectine methyl esterase activiteit

Principe:

De uit pectine bestaande middenlamel is opgebouwd uit uronzuurmoleculen (zie ook methode 117). Ten gevolge van de PME activiteit neemt het aantal carboxylgroepen toe in de uronzuurmoleculen. Deze enzymatische activiteit kan volgens methode A of B gemeten worden.

Werkwijze:

De gebruikte methode staat bekend als de Bromothymol Blauw (BMB) methode. De toename van de carboxylgroepen veroorzaakt een verandering van de pH. Deze verandering wordt spectrofotometrisch bepaald met behulp van de pH-indicator BMB.

Monstervoorbereiding:

1. Weeg ca 30 mg monster (gevriesdroogd/ gemalen) in een epje.
2. Voeg 1 ml ijs-koud milli Q (of demi) toe en roer 1 uur in de koude kamer.
3. Centrifugeer 2 minuten en verwijder de supernatant.
4. Voeg 1 ml ijskoude 1 M NaCl toe en roer 1 hr in de koude kamer.
5. Centrifugeer 2 minuten en gebruik de supernatant als enzymfractie (x).

Substraatbereiding:

1. 0.2 % pectine (w/v, citrus DM 70%), ca 120 ml
2. Los 0.1 M NaCl op in 5 ml milli Q (of DEMI) en voeg langzaam toe aan de pectine oplossing.
3. Voeg 7.5 ml 0.04% BMB toe.)
4. Voeg geconcentreerd NaOH toe tot pH = 7.8
5. Voeg milli Q toe tot totaal volume van 150 ml.
6. De netto absorptie bij golflengte 616 nm is ca. 0.8 - 1.0

Meting: (Gebruik een 3 ml cuvet bij 25 °C)

1. 2.90 ml pectine oplossing
2. (100-x) µl water
3. De reactie start door het toevoegen van een hoeveelheid enzymoplossing. Bepaal de helling bij golflengte 616 nm.
4. Gebruik een standaardoplossing van 0-0.5 µmol galacturonzuur (galA) per meting (stockoplossing 53 mg galA/ 50 ml)

PE-activiteit wordt uitgedrukt in mol gevormd produkt per seconde = 1 katal en wordt berekend volgens de volgende formule:

$$\text{PE-activiteit} = \left(\frac{\Delta A}{\Delta t} \right)_{\text{enzym}} \cdot \left(\frac{\Delta [S]}{\Delta A} \right)_{\text{ijklijn}} \cdot \text{Volume}_{\text{cuvet}}$$

Literatuur:

- * Hagerman et al: J. Agric. Food. Chem. 34: 440-444 (1986)
- * Seymour et al: J. Agric. Food Chem. 39: 1080-1085 (1991)

604. Beoordeling textuur nagebakken produkt door analytisch sensorisch panel

Principe:

De monsters worden op standaard wijze aan een intern analytisch sensorisch panel (20-25 personen) aangeboden ter beoordeling van textuureigenschappen.

Werkwijze:

In totaal worden de monsters twee keer aan de panelleden ter beoordeling aangeboden (zie tabel). Ieder monster bevat 5 frietstaven. De panelleden proeven van elk van de vijf frietstaven. Per zitting worden 5 monsters één voor één aangeboden aan een groep van 6 personen. De panelleden dienen exact op de aanvangstijd in de proefcabines aanwezig te zijn.

Het aanbieden geschiedt volgens onderstaand tijdschema:

- Afbaktijd 3 minuten
- Distributie en beoordeling 4 minuten per monster
- Totale tijd 19 minuten per zitting

De zittingen worden 's ochtends (2 keer) en 's middags (2 keer) gehouden in blokken van 30 minuten.

Data evaluatie

M.b.v. Quantitative Descriptive Analysis (QDA).

Lijst van codes van gemeten parameters aan grondstof, verwerkingsfase, voorgebakken -en nagebakken produkt. De eerste drie cijfers van de code refereren aan het onderzoeks- c.q. het analysegebied (zie ook inhoudsopgave op pp. 2, 3 alsmede de Key op pp.63-67). Het eventueel volgende cijfer (tussen haken) refereert aan de afzonderlijk gemeten parameter.

Lijst met descriptoren:

604[2,3][11]	krokante korst
604[2,3][12]	taaie korst
604[2,3][13]	stevige korst
604[2,3][14]	vettige korst
604[2,3][21]	melige kern
604[2,3][22]	droge kern
604[2,3][23]	korrelige kern
604[2,3][31]	dikte korst
604[2,3][32]	meligheid
604[2,3][33]	droogheid
604[2,3][34]	vettigheid
604[2,3][35]	smeuigheid
604[2,3][36]	heterogeniteit
604[2,3][37]	stevigheid

KEY

<u>code</u>	<u>beschrijving</u>
-------------	---------------------

GRONDSTOF

101[1]	OWG ongeschild
101[2]	OWG geschild
102[1]	ds rauwe aardappelen
102[2]	ds geblancheerde aardappelen
102[3]	ds gekookte aardappelen
103[1]	gemiddelde verdeling soortelijk gewicht tussen aardappels
103[2]	variantie verdeling soortelijk gewicht tussen aardappels
104[1]	gemiddelde verdeling soortelijk gewicht binnen aardappels
104[2]	variantie verdeling soortelijk gewicht binnen aardappels
105[11]	NMR T2a waarde vers materiaal
105[12]	NMR T2b waarde vers materiaal
105[13]	NMR Sa waarde vers materiaal
105[14]	NMR Sb waarde vers materiaal
105[15]	NMR T2 waarde geblancheerd materiaal
105[16]	NMR S waarde geblancheerd materiaal
105[17]	NMR T2 waarde gekookt materiaal
105[18]	NMR S waarde gekookt materiaal
106[1]	NIT
106[2]	IRS
107	zetmeelgehalte (mg/g FW)
109[1]	buffercapaciteit (B)
109[2]	bufferconc. (mmolen/g.FW)
109[3]	midpoint (pK')
110[1]	Na ⁺ -gehalte
110[2]	K ⁺ -gehalte
110[3]	Ca ⁺ -gehalte
110[4]	Mg ⁺ -gehalte
110[5]	Fe ⁺ -gehalte
110[6]	Cl ⁻ -gehalte
110[7]	NO ₃ ⁻ -gehalte
110[8]	PO ₄ ³⁻ -gehalte
110[9]	SO ₄ ²⁻ -gehalte
113	bakkleurindex
114	glucose
115	fructose
116	sucrose
117[1]	samenstelling celwand - uronzuurgehalte
117[2]	snelheid enzymatische afbraak
117[3]	totaal polyfenolen
118[1]	HPLC chlorogeenzuur
118[2]	HPLC ascorbinezuur
118[3]	organische zuur oxaalzuur

118[4]	organische zuur citroenzuur
118[5]	organische zuur appelzuur
118[6]	organische zuur fumaarzuur
118[7]	organische zuur pyroglutaminezuur
119[1]	gehalte vrije aminozuren
119[2]	oplosbaar eiwitgehalte
119[3]	totaal stikstofgehalte
120[1]	dip pyrofosfaat - grauwwaarde bij concentratie 0
120[2]	dip pyrofosfaat - snelheid afname grauwwaarde
201[1]	celgrootte (μm)
201[2]	maceratiesnelheid; %maceratie na 1½ uur (%)
202[1]	Instron shear - helling
202[2]	Instron shear - maximale kracht
202[3]	Instron shear - vervorming bij maximale kracht
202[4]	Instron shear - breukenergie
203[1]	Instron uniaxiale compressie - Young's modulus E
203[2]	Instron uniaxiale compressie - breukspanning
203[3]	Instron uniaxiale compressie - breukvervorming
203[4]	Instron uniaxiale compressie - breukenergie
204	hardheidsmeter
205[1]	breukgedrag met wig - maximale kracht
205[2]	breukgedrag met wig - maximale indruk
205[3]	breukgedrag met wig - breukenergie
206[1]	doorlaatbaarheid voor water/zout - a waarde vers materiaal
206[2]	doorlaatbaarheid voor water/zout - b waarde vers materiaal per dm^2 .
206[3]	doorlaatbaarheid voor water/zout - a waarde geblancheerd materiaal
206[4]	doorlaatbaarheid voor water/zout - b waarde geblancheerd materiaal/ dm^2 .
206[5]	doorlaatbaarheid voor water/zout - b waarde vers materiaal
206[6]	doorlaatbaarheid voor water/zout - b waarde geblancheerd materiaal
207	uittreding ionen
208[1]	maatsortering - gemiddelde voor maat < 70
208[2]	maatsortering - %knollen met maat > 70
210[1]	afkookcijfer
210[2]	grauwverkleuring
211	NTU
212	T100
213[1]	DSC - $\text{dH}(\text{J/g})$
213[2]	DSC - onset(C)
215[1]	produktie chips - kleur
215[2]	produktie chips - textuur
216[1]	breukgedrag met draad- maximale kracht
216[2]	breukgedrag met draad- maximale indruk
216[3]	breukgedrag met draad- breukenergie
300	peroxidaseactiviteit
301[1]	polyfenoloxidaseactiviteit
302	pectine (methyl)esterase

VERWERKING

400	%schilverlies
401	%sorteerverlies aan kantstukjes
403[1..4]	%gewichtsverlies in droger - 4 frituurtijden
404[1..4]	%gewichtsverlies in koeler - 4 frituurtijden
405[1..4]	%gewichtsverlies in vriezer - 4 frituurtijden

VOORGEBAKKEN PRODUKT

500[1..3]	%drogestof - 3 frituurtijden
502[1..5]	%porositeit - 5 frituurtijden
505[1..3]	%vet - 3 frituurtijden

NAGEBAKKEN PRODUKT

600[1..3]	%drogestof - 3 frituurtijden
603[1..3][1]	beoordeling textuur door produktexperts: Blaasjes (BLA) - 3 tijden
603[1..3][2]	beoordeling textuur door produktexperts: nat/droog (TXA) - 3 tijden
603[1..3][3]	beoordeling textuur door produktexperts: slap/hard (TXB) - 3 tijden
603[1..3][4]	beoordeling textuur door produktexperts: hol (TXB2) - 3 tijden
603[1..3][5]	beoordeling textuur door produktexperts: taai (TXC) - 3 tijden
603[1..3][6]	beoordeling textuur door produktexperts: gaar (TXD) - 3 tijden
603[1..3][7]	beoordeling textuur door produktexperts: smaak (SMK) - 3 tijden
603[1..3][8]	beoordeling textuur door produktexperts: heterogeniteit
604[2,3][11]	sensory analytical panel: krokante korst - 2 tijden
604[2,3][12]	sensory analytical panel: taaie korst - 2 tijden
604[2,3][13]	sensory analytical panel: stevige korst - 2 tijden
604[2,3][14]	sensory analytical panel: vettige korst - 2 tijden
604[2,3][21]	sensory analytical panel: melige kern - 2 tijden
604[2,3][22]	sensory analytical panel: droge kern - 2 tijden
604[2,3][23]	sensory analytical panel: korrelige kern - 2 tijden
604[2,3][31]	sensory analytical panel: dikte korst
604[2,3][32]	sensory analytical panel: meligheid
604[2,3][33]	sensory analytical panel: droogheid
604[2,3][34]	sensory analytical panel: vettigheid
604[2,3][35]	sensory analytical panel: smeugheid
604[2,3][36]	sensory analytical panel: heterogeniteit
604[2,3][37]	sensory analytical panel: stevigheid
607[1..3][1]	beoordeling kleur door produktexperts: grauwwaarde (GRW) - 3 tijden
607[1..3][2]	beoordeling kleur door produktexperts: USDA kleur (KLA) - 3 tijden
607[1..3][3]	beoordeling kleur door produktexperts: heterogeniteit (KLB) - 3 tijden
607[1..3][4]	beoordeling kleur door produktexperts: grauwwaarde nagebakken

produkt (GRW) - 3 tijden	
607[1..3][5]	beoordeling kleur door produktexperts: kookranden (KLD) - 3
tijden	
609[1..3]	%vet