

A 178



ATO-DLO

Methoden voor de karakterisering van de grondstof Aardappel

Eerste verwerkingstijdstip

VERTROUWELIJK

Agrotechnologisch
Onderzoek Instituut
(ATO-DLO)
Bornsesteeg 59
Postbus 17
6700 AA Wageningen
tel. 08370 - 75000
fax. 08370 - 12260

P.C.M. van Eijck
J. Oosterhaven
E.S.A. Biekman
E.W. De Waele
J.M.J.G. Luyten
A. Braaksma
T. Timmermans
en vele anderen

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

2251645

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	8
103. Bepaling verdeling soortelijk gewicht tussen aardappelen	10
104. Bepaling verdeling soortelijk gewicht binnen aardappelen	12
105. Bepaling van hetvochtgehalte van rauwe, geblancheerde en gekookte aardappels d.m.v. een NMR meting	13
106 ^a . Bepaling van het gehalte van de belangrijkste componenten in rauwe, geblancheerde en gekookte aardappelen d.m.v. een NIT meting	15
106 ^b . Bepaling van de aanwezigheid en toestand van water en droge-stofgehalte met behulp van infraroodspectroscopie (IRS)	17
107. Bepaling zetmeelgehalte	18
108. Microscopische bepaling vorm en grootte van zetmeekorrels	20
109. Bepaling van pH en bufferende capaciteit.	21
110. Ionenanalyse	22
111. Bepaling calcium (locatiegebonden)	23
112. Bepaling van organische zuren	24
113. Bepaling kleurindex	25
114. Bepaling van het glucosegehalte	27
115. Bepaling fructosegehalte	27
116. Bepaling sucrosegehalte	27
117. Bepaling van de celwandsamenstelling	28
118 ^a . Bepaling van chlorogeenzuur	30
118 ^b . Bepaling van ascorbinezuur	33
118 ^c . Bepaling van organische zuren	38
119. Bepaling van vrij en gebonden eiwit alsmede vrije aminozuren	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	44
202. Stevigheid; Instron shear	45
203. Stevigheid; bepaling uniaxiale compressie aan rauwe aardappel	46
204. Stevigheid; bepaling hardheid	47
205. Stevigheid; bepaling van breukenergie	48
206. Diffusie/permeabiliteit; bepaling doorlaatbaarheid van aardappelweefsel voor water en zout	49
207. Diffusie/permeabiliteit; bepaling permeabiliteit van aardappelweefsel	50
208. Grootte en vorm van aardappelen; standaard maatsortering	51
209. Grootte en vorm van aardappelen; computer beeld analyse	52
210. Bepaling kooktype en afkookcijfer	53
211. Bepaling van de turbiditeit van kookwater	54
212. Bepaling van de T100-waarde	55
213. Bepaling gelatinisatie-enthalpie m.b.v. DSC-calorimetrie	56
214. X-ray diffraction	57

215. Beoordeling van chips	58
300. Bepaling peroxidase activiteit	59
301. Bepaling van de polyphenoloxidase (PPO) activiteit	60
302. Bepaling van de pectine methyl esterase (PME) activiteit	61

Inleiding

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

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

Vorbewerking 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 random monster van minimaal 20 aardappelen en schil ze: tussen 3 en 5 kg 3 minuten schillen in de schilmachine
2. snij aardappel in lengterichting in 4 kwarten (top/navel)!!
3. schil een kwart en snij het in kleine stukje
4. doe ze 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. maal het 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. Tevens worden eventueel zieke en bevroren knollen verwijderd.

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 G2 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 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:

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

Hoewel het bepalen van een exacte correctiefactor relatief simpel is, wordt dit in de praktijk (industrie) niet gedaan. De hier beschreven methode heeft zich in de praktijk bewezen; het levert geen extreem betrouwbare droge stofgehaltes, meer geeft meer een indicatie. Verfijning zal niet leiden tot nauwkeuriger schattingen.

102. Bepaling gemiddeld droge-stofgehalte in rauwe aardappelen.

Principe:

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

Werkwijze:

Een representatief monster van circa 3 kg rauwe aardappelen wordt fijngemalen en gehomogeniseerd m.b.v. een HOBART-cutter (grootte van de stukjes maximaal 0.5 cm). 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 in een droogkast geplaatst, 15 uur gedroogd bij 60°C (=VOORDROGEN) en afgekoeld 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 voorgedroogd 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:

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

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

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

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

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 interval 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.

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.

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

Principe:

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 moet tenminste 3 cm, vanaf de bodem gemeten, zijn gevuld. De buis met monster wordt voor en na de NMR meting gewogen om het monstergewicht te kunnen bepalen. De NMR data worden ingevoerd in LOTUS. Het NMR programma staat beschreven in tabel 1.

Procedure voor rauw materiaal:

Van een monster aardappels worden 10 knollen genomen en op standaard wijze geschild. Het aanhangend water als gevolg van het schillen wordt met een tissue verwijderd. Zonder verwijderen van resten van de schil of verwijderen van "ogen" (pitten), worden de knollen vermalen in een Magi-mix gedurende 2 minuten. Na 1 minuut wordt de Magi-mix geopend om de stukjes aardappel die buiten het bereik van het mes liggen met een lepel omlaag te duwen.

Het vermalen materiaal wordt overgegoten in een beker. De inhoud wordt nogmaals goed vermengd en ca. 15 gram van het vermalen materiaal in een NMR buis gedaan. De buis kan daarna gemeten worden in de NMR. De gehele procedure van 10 knollen vermalen wordt herhaald om een duplo waarde te krijgen.

Procedure voor geblancheerd materiaal:

Van een monster aardappelen worden 20 knollen genomen en op standaard wijze geschild. 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 en gewogen. 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 in koud stromend kraanwater (10 minuten). Het net wordt geschud om aanhangend water te verwijderen. De geblancheerde aardappelstaafjes worden in de Magi-mix gedaan en vermalen als boven beschreven.

Ongeveer 16 gram van het vermalen materiaal wordt in een NMR buis gedaan voor een meting.

Procedure voor gekookt materiaal:

Van een monster aardappelen worden 8 knollen genomen en op standaard wijze geschild, dit keer met verwijderen van laatste resten schil en ogen. De aardappelen worden in stoom gekookt gedurende 30 minuten en op een diep bord gelegd. Het bord wordt bedekt met een natte doek en de aardappels koelen af gedurende 2 uur en 20

minuten. Daarna wordt er puree van gemaakt met de handpureerder. Ongeveer 16 gram van het vermalen materiaal wordt in een NMR buis gedaan voor een meting. Voor een duplo waarde worden deze handelingen herhaald.

Tabel I - NMR programma instellingen

Parameter	Waarde	Units
Shift ADV	off	
ENH	3	
RD	8	Sec.
ATT	35	dB
BW	=	100 kHz
DUR 01	150	µs
DUR 02	300	µs
PS (*)		

De puls-sequentie (PS) is afkomstig van het Carr-Purcell_Meibum-Gill puls programma.

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

Principe:

Nabij Infrarood Transmissie (NIT) is een techniek gebaseerd op de eigenschappen van doorgelaten licht bij verschillende golflengtes. De eigenschappen van het doorgelaten licht zijn karakteristiek voor het materiaal waar het door heen gaat. Het gemeten 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 10 knollen genomen en op standaard wijze geschild. Het aanhangend water als gevolg van het schillen wordt met een tissue verwijderd. Zonder verwijderen van resten van de schil of verwijderen van "ogen" (pitten), worden de knollen vermalen in een Magi-mix gedurende twee minuten. Na één minuut wordt de Magi-mix geopend om de stukjes aardappel die buiten het bereik van het mes liggen met een lepel omlaag te duwen.

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. De meting duurt 8½ minuten. De procedure vanaf het moment dat het malen klaar is tot en met het opbrengen op de NIT-plaat mag niet meer dan 2 minuten duren om uitdrogingseffecten te voorkomen. De gehele procedure van 10 knollen en vermalen wordt herhaald om een duplo waarde te krijgen.

Procedure voor geblancheerd materiaal:

Van een monster aardappelen worden 20 knollen genomen en op standaard wijze geschild. Zonder pitten (het verwijderen van laatste resten schil en ogen) worden de aardappelen in een frietnijder gedaan (10x10mm). Ongeveer 900 gram gesneden aardappelstaafjes wordt in een net gedaan en exact gewogen. 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 in koud stromend kraanwater (10 minuten). Het net wordt geschud om aanhangend water te verwijderen. De geblancheerde aardappelstaafjes worden in de Magi-mix gedaan en vermalen als boven beschreven. Ongeveer 150 gram van het vermalen materiaal wordt op de NIT plaat gebracht voor een meting. Ook hier mag de procedure vanaf het moment dat het malen klaar is tot en met het opbrengen op de NIT-plaat mag niet meer dan 2 minuten duren.

Procedure voor gekookt materiaal:

Van een monster aardappelen worden 8 knollen genomen en op standaard wijze geschild, dit keer inclusief het verwijderen van laatste resten schil en ogen. De aardappelen worden in stoom gekookt gedurende 30 minuten en op een diep bord gelegd. Het bord wordt bedekt met een natte doek en de aardappels om af te koelen gedurende 2 uur en 20 minuten. Daarna wordt er puree van gemaakt met de handpureerder. Ongeveer 180 gram van het vermalen materiaal wordt op de NIT plaat gebracht voor een meting. De procedure vanaf het moment dat het malen klaar is tot en met het opbrengen op de NIT-plaat mag niet meer dan 2 minuten duren.

106b. Bepaling van de aanwezigheid en toestand van water en droge-stofgehalte met behulp van Infraroodspectroscopie (IRS).

Principe:

Bepaling totale NIR-DRIFT spectra. De techniek maakt gebruik van resonantie vibraties van waterstofmoleculen. De spectra zijn zeer complex doordat er sprake is van grondtonen als boventonen die overlappen.

Werkwijze:

Schil de aardappelen, en snijd ze overlangs in vier kwarten. Homogeniseer 8 kwarten van verschillende aardappelen met een mixer (Braun) totdat er een gladde pap ontstaat. Bij het homogeniseren van gekookte aardappelen ontstaat een visceus geheel.

De monsters worden in de Nabije Infrarood Diffussie Reflectie gemeten (NIR-DRIFT). Hiertoe moet eerst de speciale module voor diffussie metingen in het sample compartiment van de spectrometer worden geplaatst (zie handleiding FTS-60A voor NIR).

- Zorg dat de NIR-lamp aan is
- Zorg dat de juiste Beamsplitter (ISQ8) geïnstalleerd is.
- Zorg dat de 'cover' van de NIR-detector is verwijderd.
- Zorg dat de cuvet goed vol is en het oppervlak 'glad'.

Meting:

- Calibreer het apparaat eerst elektronisch met KBr
- Neem het spectrum op van KBr. Dit spectrum wordt als referentie (achtergrond) gebruikt
- Neem het interferogram op van de monsters: elk monster in viervoud meten en per cuvet 64 scans.

Berekening:

Het uiteindelijke absorptie-spectrum is het gemiddelde van de vier spectra. Na het meten van het drogestofgehalte kan een ijklijn worden gemaakt.

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 fractie wordt ingedampt om later het suikergehalte van te kunnen meten. Na droging van de zetmeelfractie wordt het opgelost in DMSO. Het zetmeel wordt enzymatisch gesplitst in glucose, door het enzym amyloglucosidase. Glucose wordt spectrofotometrisch bepaald door een twee enzymatische reacties waarbij het glucose eerst wordt gefosoryleerd 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. De methode staat uitvoering beschreven in Methods of Biochemical Analysis and Food Analysis, uitgegeven door Boehringer Mannheim.

Werkwijze:

Extraktie-methode voor zetmeel:

- * 2.5 gram gevriesdroogd en gemalen monster nauwkeurig afwegen in een extraktiekolf van 250 ml
- * 75 ml Methanol 80% toevoegen,
- * gedurende 1 uur extraheren met kokende alcohol met terugvloeiakoeling
- * 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 en aanvullen tot de streep met demi-water, na goed schudden ± 20 ml overschenken in plastic flesje en invriezen.

N.B. voordat het suikergehalte van het monster, na ontdooien, bepaald kan worden, wordt het 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 595.5 (S&S) en voor het bepalen van het zetmeelgehalte, het heldere filtraat 1:10 verdunnen.

* in kuwet pipeteren:

- * 100 µl citraatbuffer, pH = 4,6
- * amyloglucosidase 84U
- * + 50 µl monster \ standaard
- * + 15 min. incuberen bij 55 - 60 °C
- * + 1 ml triethanolaminebuffer, pH = 7,6
- * NADP 75 µg, ATP 19049, MgSO₄
- * + 1 ml demi-water
- * na ± 3 min. meten (A1)
- * + 10 µl hexokinase 200U
- * glucose-6-fosfaat dehydrogenase 100U
- * na ± 10 -15 min. meten bij 340 nm

108. Microscopische bepaling vorm en grootte zetmeelkorrels

niet opgenomen in methoden eerste verwerkingstijdstip

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. Het aldus gevonden midpoint wordt gebruikt om de totale buffer concentratie te berekenen met de formules:

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

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 pK en c gemeten danwel berekend.

Uitvoering:

Weeg tussen de 1.75 en 2.25 gram gevriesdroogde vermalen aardappel af.

Breng het over in een 50 ml bekerglaasje,

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 minuutje)

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.

Werkwijze:

1. neem 10,0 gr aardappelpoeder en vul aan tot 50,0 ml met MQ (koud)
2. homogeniseer in Ultra Thurax
3. filtreer
4. haal filtraat over Sep-Pak kolommetje (onteiwitten)
5. breng monster over in 3 HPLC-mosterflesje (zie ook 112)
6.
 - a. voer HPLC methode voor kationen uit
 - b. voer HPLC methode voor anionen uitNB. methodes volgen bij installatie van HPLC
7. voor validatie van de methode: standaarden meenemen voor:
anionen: NO_3 , PO_4 ,
kationen: Fe, Ca, Mg, Na, K
8. bereken naar mg/kg droog gewicht

111. Bepaling calcium (lokatiegebonden)

112. Bepaling van organische zuren

Principe:

De methode is gebaseerd op een HPLC methode zoals beschreven is door Waters/Millipore.

Werkwijze:

1. neem extract van **110** en voer HPLC-methode uit voor org. zuren (zie **118**)
2. voer recovery studies uit voor:
 - citraat
 - malaat
 - fumaraat
 - oxalaat
3. bepaal responsfactoren en bereken naar mg/kg drooggew.

113. Bepaling kleurindex

1) Monster

Uit het voorlopig monster moeten 20 gezonde knollen worden genomen, waarna met een snijder in de lengte-richting staafjes van 10 x 10 mm worden gesneden. Het monster moet bestaan uit één staaf van iedere knol, welke staaf uit het hart van de aardappel dient te worden genomen.

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 aan de gestelde waarden te laten voldoen 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 of na het bakken van 200 monsters.

5) Bakmonster

De temperatuur bij het bakken moet 180°C zijn, hetgeen steeds 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 worden vergeleken met de kleurenkaart.

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. 47, 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 van 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		
Vermenigvuldingsfaktor	:	0,	1,	2,	3,	4,	5,	6

Bakkleurcijfer

:

2x1 + 9x2 + 7x3 + 2x4

=

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. 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 gluconaat-6-fosfaat dehydrogenase waarbij het gevormde (NADPH spectrofotometrisch wordt bepaald. (zie ook zetmeelbepaling).

Hexokinase fosforyleert ook fructose tot fructose-6-fosfaat, hetgeen als toename in absorptie (NADPH vorming) wordt geregistreerd. Door nu als laatste het enzym β -fructosidase toe te voegen wordt het sucrose gesplitst in glucose en fructose. Deze reactieproducten worden weer omgezet als boven beschreven en als toename in absorptie gemeten.

Werkwijze:

Zie *Methods of Biochemical Analysis and Food Analysis*. (Boehringer Mannheim)

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.

Werkwijze:

De aardappelen worden gevriesdroogd en bewaard in afwachting 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 aan drie replica's.

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 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:

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

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.

118. Bepaling van componenten in relatie tot grauwwerking; 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 595 1/2 Rondbodemkolven 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 - Gentisinezuur (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 bekerglaasje 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 595 1/2 vouwfilter in een rondbodemkolf van 1 liter.
- De oplossing bijna droogdampen (tot ongeveer 4 ml) m.b.v. een filmverdamp(er) (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 filmverdamp(er) (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 ($\mu\text{g}/5\text{ g}$) wordt gevonden door: interpolatie in de ijklijn en vermenigvuldiging met de verdunningsfactor (10^4)

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

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

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.
- Rastovki, v.Es 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:

Benodigdheden	Apparatuur
- Wijdmonds erlenmeiers van 300 ml - Maatkolven van 250 en 25 ml - Bekerglaasjes van 25 ml - Trechters - Vouwfilters S&S 595 1/2 - 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 595 1/2 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 bekersglasje 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 maatkolpje 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 worden met water met 10 % methanol.

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 produkten

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.Dennison, 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 595 1/2 - 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 vermalen 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 vrij en gebonden eiwit alsmede 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 eiwit een belangrijke parameter is, wordt vermoed 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. Het gehalte aan oplosbaar eiwit, totaal eiwit en het gehalte vrije aminozuren wordt gemeten.

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 supernatans wordt het eiwitgehalte bepaald zoals beschreven door Bradford [Anal. Biochem.72(1976);248] met BSA als standaard.

De verhouding gevriesdroogd materiaal:buffer is als 1:5; 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.

De destructietijd is 45 minuten bij 420°C in aanwezigheid van fosforzuur en katalysatoren; het monster wordt volledig gesolubiliseerd. Er wordt uitgegaan van 2 en 4 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 het supernatans waarin ook de oplosbare eiwitten zich bevinden. 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.

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 resp. oplossingen met verschillende pyrofosfaatconcentraties.

Werkwijze:

Zes baden (inhoud 20 l) zijn voor de helft gevuld met leidingwater op kamertemperatuur. Vijf ervan worden op een verschillende pyrofosfaatconcentratie gebracht, beginnend bij 2 g/l tot en met 10 g/l met interval 2 g/l. In het zesde bad wordt geen pyrofosfaat toegevoegd.

Meting/Berekening:

Uit een representatief monster worden 3 kg aardappelen geschild met een GLASTRA-messenschiller 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 in een monsterpot gebracht en gewassen onder koud stromend water. Daarna worden de staafjes in een netje gedaan en 5 min. verhit in een blancheur, gevuld met leidingwater op 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 eenvoudige methode voorhanden de celgrootte te kwantificeren. Daarnaast speelt het probleem dat de celgrootte door het weefsel heen verschilt van grootte.

Om deze redenen wordt deze bepaling vooralsnog niet uitgevoerd.

201. Bepaling van celgrootte.

Principe:

Endo-PG breekt de midden lamel van de aardappelcellen af, waardoor een suspensie van losse intacte cellen ontstaat.

Werkwijze:

Van elke batch wordt het interne phloem parenchymatische weefsel van 20 aardappelen in blokjes gesneden en gewassen met demiwater.

Het weefsel wordt enzymatisch gemacereerd met behulp van Rohament P (Rohm GmbH) door incubatie in een 0,2% citraatbuffer van pH=4 en bij een temperatuur T=40 °C en endo-PG-activiteit van 1 IU/ml (ca. 7,5 mg Rohament P/ml)

Meting:

De celgrootteverdeling wordt in duplo (twee verschillende maceraties) bepaald met behulp van een Coulter Counter.

202. Stevigheid; Instron shear.

Principe:

Stukjes rauwe aardappelen worden in een Kramer shear cel die verbonden is aan de Instron uiteen getrokken tot breuk. De kracht die hiervoor nodig is, is een maat voor de hardheid van de aardappels.

Werkwijze/Benodigdheden/Meting:

Uit een partij worden aselekt 18 rauwe aardappels gehaald en geschild. Hiervan worden blokjes van 10x10x10 mm gesneden. Honderd gram aardappelblokjes worden in de Kramer shear cel uitééngetrokken en de benodigde kracht 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 maximale kracht, de enrgie tot de maximale kracht en de beginhelling kracht/indrukking.

203. Stevigheid; bepaling uniaxiale compressie aan rauwe aardappel.

Principe:

Uniaxiale compressie-experimenten aan rauwe aardappel worden uitgevoerd om de modulus, breekspanning en vervorming bij breuk te bepalen.

Werkwijze:

Uit een rauwe aardappel wordt m.b.v. een holle boor en een 'eisenijder' 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. 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 [$\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$]. Dit is een maat voor de stevigheid van het weefsel.
- de breekspanning, σ_{br} [$\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$]. Deze geeft de overall spanning in het materiaal aan waarbij breuk optreedt.
- de relatieve vervorming bij breuk, ϵ_{br} [-]. Dit is de relatieve indrukking bij breuk van het materiaal.

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 seconde belast met een kracht van 20 l (= 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.

205. Stevigheidsmeting; bepaling van breukenergie.

Principe:

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

Werkwijze:

Een proefstukje rauwe aardappel (10x10x10 mm) wordt d.m.v. een wigje met een hoek van 10 graden doormidden geklieft. De wig is bevestigd aan een duw/trekbank (Instron) met een krachtopnemer van 100N. De snijsnelheid is 4 mm/min. Indien het aardappelweefsel voor de wig uit breekt met een snelheid die gelijk is aan de snelheid waarmee de wig 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:

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

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

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

Principe:

Wordt een bepaald gewicht 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 instelt. Door voorafgaand blancheren neemt de wefseldoorlaatbaarheid toe en wordt een meer uitgesproken gewichtsverandering waargenomen. Wordt deze proef in een volkomen gestandaardiseerde opzet herhaald met rauwe of geblancheerde monsters afkomstig van verschillende rassen, dan kan de snelheid waarmee hun gewicht verandert als maat genomen worden voor de wefseldoorlaatbaarheid 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 areometer, 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:

Uit een representatief monster worden 3 kg aardappelen geschild met een GLASTRA-messenschiller en wordt met een HOBART-snijmachine blokjes aardappelweefsel van $10 \times 10 \times 10$ mm gesneden. De blokjes worden onder koud stromend leidingwater gewassen. Na uitlekken 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 geregistreerde gewichten als functie van de tijd in grafiek uit te zetten, is een maat voor wefseldoorlaatbaarheid van het rauwe weefsel.
- een monster van ongeveer 1 kg blokjes wordt geblancheerd op 80 °C gedurende 4 min. in schoon water en afgekoeld onder koud stromend leidingwater. Na uitlekken wordt een-zelfde procedure als voor het rauwe monster herhaald. De helling van de hier verkregen curve is een maat voor de wefseldoorlaatbaarheid van het geblancheerde weefsel.

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

De permeabiliteit van weefselschijfjes is een gegeven mbt veroudering van het aardappelweefsel. Ouder materiaal geeft een grotere permeabiliteit.

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.

Voor de maatsortering worden de praktijkwaarden voor frites aangehouden, d.w.z. groter dan 50mm (50 opwaarts).

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

Principe:

Visueel uitwendige kenmerken van 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. 0.5*0.5 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 geschild met een GLASTRA-messenschiller en ontpit. Op een elektrische kookplaat wordt in een 2 l 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 klasserangnummer met het bijbehorend aantal aardappelen en het verkregen getal te delen door het totaal aantal beoordeelde aardappelen.

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:

Uit een representatief monster wordt 3 kg aardappelen geschild met een GLASTRA-messenschiller 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 voor 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.

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.

Werkwijze:

Uit een representatief monster wordt 3 kg aardappelen geschild met een GLASTRA-messenschiller 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 continu 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:

Uit een representatief monster worden 3 kg aardappelen geschild met een GLASTRA-messenschiller, waarna van iedere aardappel een kwart wordt gesneden en verzameld in een monsterpot. Het geheel wordt fijngemalen m.b.v. de MAGIMIX-cutter, waarna een 30 g wordt overgebracht in een monsterpotje (volume 100 ml). Dit wordt 4 min. gehomogeniseerd met een YSTRAL X 1020 ultra-turax, waarvan het toerental wordt getemperd door de bijbehorende T 1500 frequentieomvormer op stand 7 in te stellen. Na verwijdering van stukjes weefsel op de turax-cilinder en de bovenrand van het monsterpotje, wordt nog een tweetal minuten op maximaal vermogen gemixt.

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 getarreeerde 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 tussen 5 en 100 °C aan een snelheid van 20 °C/min.

Uit de verkregen endotherme piek wordt de gelatinisatie-enthalpie berekend per gram vers aardappelmonster. Na zetmeelbepaling uit hetzelfde representatieve monster, wordt dit cijfer omgerekend tot gelatinisatie-enthalpie per gram zetmeel.

214. X-ray diffraction

wordt niet uitgevoerd

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:

Uit een representatief monster worden 3 kg aardappelen geschild met een GLASTRA-messenschiller 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 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. 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 oxidatie van H_2O_2 en de reductie van het co-substraat. De reductie van het co-substraat (guaiacol of 3,3',5'-tetramethylbenzidine [TMB]) veroorzaakt een kleurverandering welke gekwantificeerd kan worden (absorptie bij een golflengte).

Werkwijze:

Ongeveer 1 gram vers gewicht (of 100 mg DWT) wordt gehomogeniseerd (sonicator, potter of malen in vloeibare stikstof) in 1 ml 100 mM fosfaatbuffer pH 6.5. Centrifugeer (10 min, 10.000 g) en gebruik de supernatant voor het bepalen van de POD activiteit.

Guaiacol-oplossing	TMB-oplossing
- 100 mM Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 (pH 6.5) - 0.15% H_2O_2 oplossing - 50 mM Guaiacol oplossing [weeg 124 mg (zuurkast !), verwarm langzaam totdat al het materiaal is gesmoten. Voeg tijdens roeren en verhitting 20 ml water toe totdat al het materiaal is opgelost (1 week bruikbaar).	- 100 mM Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 (pH 6.5) - DMSO - 0.15% H_2O_2 - TMB oplossing (los 9.6 mg TMB op in 4.8 ml DMSO, eventueel ultrasoon). Voeg fosfaatbuffer toe tot 40 ml. Bewaar de oplossing op ijs (maximaal 1 dag).

Meting met guaiacol als substraat	Meting met TMB als substraat
Mix in een cuvet de volgende oplossing: - 1.7 ml fosfaat buffer - 0.1 ml guaiacol oplossing - 0.01 ml monster - 0.1 ml H_2O_2-oplossing Bepaal de absorptie bij - 420 nm	Mix in een cuvet de volgende oplossing: - 1.94 ml TMB oplossing - 0.01 ml monster - 0.1 ml H_2O_2-oplossing Bepaal de absorptie bij - 655 nm

De peroxidase activiteit kan worden berekent uit de helling van de absorptie toename. In deze proefopzet is 1 Unit = 0.001 $\Delta A/min$.

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 tyrosinasen genoemd). In deze assay worden zowel de niet-actieve (met SDS) als de actieve tyrosinase gemeten.

Werkwijze:

Ongeveer 0.5 g versgewicht (ca. 50 mg drooggewicht, nauwkeurig afgewogen) wordt in 1 ml buffer A gehomogeniseerd mbv een sonicator (in ijs, 1 minuut). Het homogenaat centrifugeran (30 min, 11000 g); op het supernatant wordt de bepaling uitgevoerd.

- Buffer A: 100 mM Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, pH 6.5
- Buffer B: 100 mM Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, pH 6.5 met 1.0% SDS
- Buffer C: 17.3 mM L-DOPA in buffer A (3.41 g/l, Merck Index oplossen door verwarming).

Actief PPO	Totaal PPO
Meng in een plastic cuvet: - 0.3 ml buffer A - 2.6 ml buffer C (eindconc L-DOPA 15 mM) - 0.1 ml homogenaat Meng goed en volg de toename van de absorptie bij 478 nm in de tijd mbv een spectrofotometer.	Meng in een plastic cuvet: - 0.3 ml buffer B (eindconc SDS 0.1%) - 2.6 ml buffer C (eindconc L-DOPA 15 mM) - 0.01 ml homogenaat Meng goed en volg de toename van de absorptie bij 478 nm in de tijd mbv een spectrofotometer.

De activiteit wordt berekend uit de toename van de absorptie bij 478 nm ($\Delta A/\text{min}$) volgens:

$$\text{PPO-ACTIVITEIT} = \frac{\Delta A / \Delta \text{TIJD} \cdot [\text{reactie volume}]}{3313 \cdot 60 \cdot [\text{volume oplossing}]} = \dots \text{ katal/ml}$$

Voor actief PPO wordt dit:

PPO activiteit = ($\Delta A/\text{min}$) * 150.92 in $\mu\text{katal/ml}$ [zonder SDS] (0.1 ml enzymoplossing)
Delen door het drogestof gehalte (mg/ml) van het homogenaat geeft de activiteit in $\mu\text{katal/g}$

Voor Totaal PPO (= latent+actief) wordt dit:

PPO actviteit = ($\Delta A/\text{min}$) * 1509.2 in $\mu\text{katal/ml}$ [met SDS] (0.01 ml enzymoplossing)
Delen door het drogestof gehalte (mg/ml) van het homogenaat geeft de activiteit in $\mu\text{katal/g}$.

302. Bepaling van de pectine methyl esterase activiteit

Principe:

Ten gevolge van de PME activiteit neemt het aantal carboxylgroepen toe die volgens methode A of B gemeten worden.

Werkwijze:

Methode A: Bromothymol Blauw (BMB) methode

De toename van de carboxylgroepen veroorzaakt een verandering van de pH. Deze verandering wordt spectrofotometrisch bepaald door middel van de pH indicator BMB.

Nadeel van deze methode:

- Er kan maar bij één pH gemeten worden
- Buffers werken storend bij de bepaling

Voordeel:

- Snel
- Weinig enzym nodig. Goed voor screening kolomfracties op activiteit.

Monstervoorbereiding:

1. Weeg ca 30 mg monster (gevroesdroogd/ 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 product per seconde = 1 katal en wordt berekend volgens de volgende formule:

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

Methode B: Automatische titratie methode:

De enzymactiviteit wordt bepaald door middel van continue automatische titratie van de vrijgemaakte carboxyl groepen met benulp van NaOH.

Nadeel:

- tijdrovend
- het volume van de oplossing verandert

Voordeel:

- er kan bij meerdere pH's gemeten worden
- minder gevoelig voor buffers.

Reagentia:

- Substraat: 0.5% citrus pectine (DM 70%, Sigma), 0.1 M NaCl in 0.01 M acetaatbuffer, pH 7.5.
- 0.01 N NaOH
- Enzymoplossing, opgelost in 0.01 M acetaatbuffer pH 7.0

Apparatuur:

- Vit 90 videotitrator (Radiometer, Kopenhagen)

Procedure:

- 25 ml pectine oplossing wordt voorverwarmd in een waterbad van 25 of 30 °C. De reactie wordt gestart dmv het toevoegen van 1 ml enzymoplossing en gedurende 15 minuten geregistreerd. De hoeveelheid toegevoegde NaOH (0.01 N) wordt vastgelegd.

Berekening:

$$\text{PE-activiteit} = \left(\frac{\Delta \text{VOLUME} * [\text{NaOH}]}{\Delta t} \right) = \dots\dots (\text{mol/min})$$

Literatuur:

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