

Nutriënten kwaliteitszorg programma : NUKWAP

Wetenschappelijk ondersteuningsprogramma
voor de normalisatie

deel II

Eindverslag

Federale Diensten voor
WETENSCHAPPELIJKE, TECHNISCHE
EN CULTURELE AANGELEGENHEDEN

NUTRIENTEN KWALITEITSZORG PROGRAMMA: NUKWAP

EINDVERSLAG

**WETENSCHAPPELIJK
ONDERSTEUNINGSPROGRAMMA
VOOR DE NORMALISATIE:
DEEL II**

CONTRACT NO/02/013: 1 april 1996 – 31 december 1998

**VZW NUBEL
RIJKSADMINISTRATIEF CENTRUM
1010 BRUSSEL**

WETENSCHAPPELIJK ONDERSTEUNINGSPROGRAMMA VOOR DE NORMALISATIE : DEEL II

EINDVERSLAG

VZW NUBEL, Rijksadministratief Centrum, 1010 Brussel.

Project : Nutriëntenkwaliteitszorgprogramma : NUKWAP

Contract : NO/02/013 : 1 april 1996 – 31 december 1998

Indeling

1. Inleiding
 - 1.1 Belang van de studie in het kader van het programma
 - 1.2 Internationale interactie
 - 1.3 Doelstellingen
2. Methodologie
 - 2.1 Keuze van de te bepalen voedingsnutriënten in welbepaalde voedingsmiddelen
 - 2.2 Bemonstering
 - 2.3 Stabiliteit- en homogeniteitstesten
 - 2.4 Interlaboratorium onderzoeken
 - 2.5 Statistische verwerking
 - 2.6 Kwaliteitsborging
3. Resultaten
 - 3.1 Homogeniteits- en stabiliteitstesten
 - 3.2 Interlaboratorium onderzoeken
4. Besluiten en aanbevelingen
5. Synthese van het onderzoek / Synthèse de la recherche
6. Bijlagen

WETENSCHAPPELIJK ONDERSTEUNINGSPROGRAMMA VOOR DE NORMALISATIE : DEEL II

NUTRIENTENKWALITEITZORGPROGRAMMA

Normalisatieprocedures en kwaliteitsborgingssystemen voor analysegegevens in de Belgische
voedingsmiddelentabel

EINDVERSLAG

vzw NUBEL, Rijksadministratief Centrum, 1010 Brussel

In dit eindverslag wordt een overzicht gegeven van de activiteiten die, volgens de overeenkomst Nr. NO/02/013, door de vzw NUBEL van 1 april 1996 tot 31 maart 1999 in het kader van het project NUKWAP werden gecoördineerd, uitgevoerd, bediscussieerd en gerapporteerd.

1. INLEIDING

In overleg met de wetenschappelijke Raad van de vzw NUBEL werd door de Raad van Beheer van de vzw NUBEL beslist om in het kader van het wetenschappelijk ondersteuningsprogramma voor de normalisatie, deel II, bij de Dienst voor Wetenschappelijke, Technische en Culturele Aangelegenheden (DWTC) een onderzoeksproject in te dienen met betrekking tot normalisatieprocedures en systemen van kwaliteitsborging voor analysegegevens in de Belgische voedingsmiddelentabel. Dit onderzoeksproject met als coördinator-projectverantwoordelijke ir. R. Van Havere en als promotor H. Beernaert, vzw NUBEL, werd door het DWTC aanvaard. Binnen het onderzoeksproject heeft de vzw NUBEL een coördinerende, administratieve en publicerende rol, met als belangrijkste taken het plannen van evaluatie- en coördinatievergaderingen en het inbrengen, verwerken en rapporteren van de gegevens. Met betrekking tot de uitvoering van het onderzoeksproject werd ondermeer ondersteuning verleend door de leden van het consortium, met name dhr. B. Buts, Ministerie van Volksgezondheid en Leefmilieu (Brussel), dhr. R. Keymolen, Instituut voor Veterinaire Keuring (Brussel), dhr. J.M. Beguin, Centre de Recherche d'informations des organisations de consommateurs (OIVO-CRIOC, Brussel), dhr. P. Croon, Normalisatieinstituut België (Brussel) en door Prof. J.M. Pycke Institut Paul Lambin (UER-Bromatologie), Prof. A. Huyghebaert (UG-Gent) en Prof. H. Deelstra (UIA-Antwerpen).

Deze drie professoren stonden in voor de coördinatie, de uitvoering van stabiliteit- en homogeniteitstesten van respectievelijk vetten en vetzuren, vitaminen en mineralen in diverse matrices. Zij waren met vzw NUBEL medecoördinator bij de organisatie van ringtesten met betrekking tot vermelde nutriënten.

De kwaliteitsborging van de uitgevoerde onderzoeken werd opgevolgd door H. Beernaert (Afgevaardigde Beheerder vzw NUBEL en Kwaliteitsverantwoordelijke van het Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid-Louis Pasteur). Tenslotte heeft vzw NUBEL beroep gedaan op J. De Beer (Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid-Louis Pasteur) voor de statische verwerking van de interlaboratorium gegevens. Hierbij werd gebruik gemaakt van het statistisch programma voor de verwerking van ringtest gegevens overeenkomstig de norm ISO 5725-2 (1994), ontwikkeld door H. Verplaetse (Ministerie Economische Zaken-Centraal Laboratorium). NUBEL wenst ook zijn dank te betuigen aan de wetenschappelijke adviezen verstrekt door J. Van Loco (Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid-Louis Pasteur) bij de interpretatie van sommige gegevens.

1.1 Belang van de studie in het kader van het programma

De consument heeft recht op een correcte informatie met betrekking tot de samenstelling van zijn voeding. In het kader van de Europese regelgeving werden twee koninklijke BESLUITen gepubliceerd betreffende de **etikettering van voorverpakte voedingsmiddelen (KB van 13/11/1986, BS 02/12/1986)** en de **voedingswaarde –etikettering van voedingsmiddelen (KB 08/01/1992, BS 21/02/1992)**. Via de etikettering en voedingsaanbevelingen (**Nationale Raad voor de Voeding, Voedingsaanbevelingen voor België, Brussel, Ministerie van Sociale Zaken, Volksgezondheid en Leefmilieu, 1996**) beschikt de consument over instrumenten om zijn voedingsbehoeften in functie van zijn activiteiten en van een optimale gezondheid mede te bepalen.

Het voedingsbeleid inzake etikettering en aanbevelingen is gesteund op de accuraatheid van de gegevens inzake de nutritionele samenstelling van de verschillende voedingsmiddelen in het voedselpakket. Diverse actoren zijn hierbij betrokken: de overheid, de onderzoekers, het bedrijfsleven en de consumenten. De diverse actoren zijn complementair en kunnen een belangrijke bijdrage leveren in het bepalen van het voedingsbeleid. De overheid heeft een coördinerende rol en dient over accurate gegevens te beschikken om een inzicht in de gezondheidsproblematiek van de bevolking te bekomen en om een optimaal voedingsbeleid te voeren. Het opzetten van epidemiologische studies met als doel een relatie te leggen tussen gezondheid, ziekte en voedselconsumptie is slechts zinvol wanneer men over analysegegevens van voedingsmiddelen beschikt die bekomen zijn met gevalideerde methoden.

In deze optiek werd beslist om een onderzoeksproject uit te voeren waarbij specifieke nutriënten of voedingsstoffen van welbepaalde voedingsmiddelen worden geanalyseerd met genormaliseerde methoden of met methoden waarvan de kwaliteit van de analysegegevens integraal geborgd is.

In het programmaconcept werd geopteerd voor de analyse van mineralen, vitamines, totaal vet en vetzuren in voedingsmiddelen die representatief zijn voor een bepaalde groep voedingsmiddelen en waarvan de bijdrage tot het gemiddeld dagelijks voedingspakket hoog is.

Om het project uit te voeren werd een protocol opgesteld waarbij kwaliteitsborging in bemonstering, analysemethoden, statistische verwerking en validatie van analysegegevens prioritair was.

1.2 Internationale interactie

Het verhandelen van voedingsmiddelen is een multinationaal gebeuren. In dit kader is de voedsetikettering geen nationale materie meer, maar wordt ze opgelegd via de Europese regelgeving. Om te vermijden dat handelsbelemmeringen schering en inslag zijn en dat analyses van dezelfde nutriënten of voedingsstoffen op welbepaalde voedingsmiddelen meermaals gebeuren, wordt binnen de internationale context geijverd om de analyses in de laboratoria te laten uitvoeren volgens gestandaardiseerde systemen van kwaliteitsborging, zodanig dat dankzij multilaterale overeenkomsten de analysegegevens van een laboratorium A in een land B ook aanvaard worden in land C. Op deze wijze kunnen analysegegevens tussen verschillende landen beter uitgewisseld worden wat ten goede komt aan de wetenschappelijke onderbouw van de voedingsmiddelentabellen. Dergelijke situatie leidt tot een verhoogde accuraatheid van de gegevens in de voedingsmiddelentabellen waardoor een optimaler voedingsbeleid kan gevoerd worden, de voedingswaarden exacter kunnen vastgelegd worden, de aanbevelingen wetenschappelijk beter kunnen onderbouwd worden en de aanduidingen op de voedsetikettering voor de consument informatief betrouwbaarder zijn.

In dit project werd een eerste stap gezet om de methoden die werden gebruikt bij de analyse van vermelde nutriënten internationaal te vergelijken. Om dit te verwezenlijken werden Nederlandse en Franse laboratoria bij het project betrokken.

1.3 Doelstellingen

Het project heeft als doelstelling normalisatieprocedures en processen van kwaliteitsborging uit te werken voor de analyse van nutriënten in welbepaalde levensmiddelen. Deze procedures en processen moeten:

- De vzw NUBEL in staat stellen de analytische methoden die door de deelnemende laboratoria in het kader van interlaboratorium onderzoeken werden toegepast te valideren en na te gaan of ze op basis van acceptatiecriteria voor normalisatie in aanmerking komen.

- De betrokken actoren (het bedrijfsleven, het wetenschappelijk onderzoek, de overheid en de gebruikers van voedingsmiddelen) een betrouwbaar en precies meetinstrument bezorgen bij onderlinge uitwisseling van gegevens inzake nutritionele samenstelling van de voedingsmiddelen. Hierbij moet een zelfde maatstaf gehanteerd worden en is normalisatie zowel in de procedure van staalneming als in de verwerking van analysegegevens noodzakelijk.
- De databank van de Belgische Voedingsmiddelentabel bevat waardevolle analysegegevens over nutriënten. Voor de validatie van de analysegegevens moet aan de volgende voorwaarden voldaan worden:
 - ❖ De analysegegevens moeten bij voorkeur uitgevoerd worden in geaccrediteerde laboratoria;
 - ❖ Genormaliseerde of gevalideerde methoden moeten gebruikt worden;
 - ❖ De genomen stalen van het voedingsmiddel moeten representatief zijn voor de samenstelling van het voedingsmiddel.

Om aan deze voorwaarden te voldoen dient er nog heel wat onderzoek verricht te worden.

- De fabrikant van voedingsmiddelen toelaten de verantwoordelijkheid te nemen met betrekking tot de juistheid van de aangeduide nutritionele waarden. Dit is een verplichting zowel voor de eigen markt als voor de andere Europese Lidstaten. De voedingswaarde etikettering van voedingsmiddelen is gebaseerd op de Richtlijn 90/496/EEG van 24/09/1990 en werd omgezet in Belgisch Recht bij K.B. van 8 januari 1992. Deze Richtlijn bepaalt hoe de voedingswaarde etikettering moet worden aangeduid op voedingsmiddelen die in de Europese Unie worden verkocht. Dit project wil een bijdrage leveren tot de normalisatie van analysegegevens. Door deze gegevens te gebruiken wordt de fabrikant als informatieverstrekker ondersteund om de betrouwbaarheid van de verstrekte gegevens te verhogen. Om dit proces in een Europese context te plaatsen is samenwerking met BCR (Bureau Communautaire de Référence) en CEN (Comité Européen de Normalisation) belangrijk en moet er nagegaan worden welke voor de Belgische bedrijven en consumenten de beste vertaling is van de Europese Richtlijn 90/496/EEG.
- Het overleg tussen de gegevensverstrekkers en –gebruikers bevorderen. Met dit project wensen we de in België bestaande competenties en belangen bij elkaar te brengen. Zij die gegevens verstrekken behoren tot het bedrijfsleven (industrie en distributie) en de wetenschappelijke wereld. Zij die gegevens gebruiken zijn het bedrijfsleven (informatie - opvraag), de overheid, de medische en paramedische wereld, de onderwijsinstellingen en de verbruikers. Het project dat gefocust is op het wetenschappelijk onderzoek van 3 groepen van nutriënten in welbepaalde voedingsmiddelen wordt gecoördineerd door de respectievelijke sub-promotoren. Zij worden in het project als pilootlaboratoria aangeduid. Zij vormen met de laboratoria die dezelfde materie beheersen een soort netwerk wat in de praktijk wordt gerealiseerd via de organisatie van interlaboratorium onderzoeken.

De resultaten van deze onderzoeken zullen aan de gebruikers en de informatieverstrekkers ter informatie worden voorgelegd.

2. METHODOLOGIE

2.1 Keuze van de te bepalen nutriënten in welbepaalde voedingsmiddelen (april 1996)

In een eerste fase wordt nagegaan voor welke nutriënten normalisatieprocedures moeten opgesteld worden. Hierbij werden drie criteria gehanteerd:

➤ *De relevantie van de volksgezondheid*

Elk vitamine dient in voldoende mate aanwezig te zijn in de voeding om aan de behoefte van het individu te kunnen voldoen. Het zijn essentiële stoffen die de normale werking of de groei van het organisme verzekeren. Het menselijk lichaam kan deze stoffen zelf niet of in onvoldoende mate opbouwen. Vandaar dat we ze uit onze voeding moeten halen. Aangezien de **vitaminen** tot de vet- en wateroplosbare behoren werd besloten om uit elke groep tenminste één vitamine te kiezen. Vetoplosbare vitaminen (vb. vitamine A) kunnen voor een aanzienlijke periode in het lichaam worden opgeslagen. De wateroplosbare vitaminen (vb. vitamine B1) daarentegen kunnen continu met de voeding opgenomen worden aangezien de overmaat via de urine wordt uitgescheiden. Vermits de groep van de wateroplosbare vitaminen omvangrijker is dan de vetoplosbare, werd door de sub-promotoren van het project vooropgesteld om vitamine A voor de vetoplosbare en vitaminen B1 en B2 voor de wateroplosbare vitaminen te kiezen.

De keuze van het voedingsmiddel werd bepaald in functie van het voorkomen van het vitamine in het voedingsmiddel. Hierbij werd beslist om de volgende voedingsmiddelen te analyseren:

Leverpastei → vitamine A

Volkorenbloem → vitamine B1

Drinkyoghurt → vitamine B2

Naast de vitaminen zijn de **mineralen** als beschermende en/of bouwstoffen eveneens onontbeerlijk voor het functioneren van ons lichaam. Ze dragen bij tot de opbouw en werking van het lichaam.

De meeste mineralen komen in grote hoeveelheden in de voeding voor (vb. calcium, natrium, kalium, magnesium, e.a.). Daarnaast heeft men mineralen die in uiterst geringe mate noodzakelijk zijn voor de mens. Het betreft hier de zogenaamde sporenelementen (vb. ijzer, zink, koper, mangaan, e.a.). Er werd beslist de volgende mineralen en sporenelementen te onderzoeken: calcium, natrium, kalium, magnesium en zink. De relatie van de aan- en afwezigheid van deze mineralen met verschillende ziektepatronen is voldoende gekend:

calcium wordt gerelateerd met osteoporose en colonkanker; magnesium met ischemie; natrium met verhoogde bloeddruk; kalium is een essentieel element met natrium en zink is als geïntegreerd onderdeel van talrijke enzymatische systemen gerelateerd met tal van ziekten. Voor de keuze van te analyseren voedingsmiddelen werd geopteerd voor voedingsmiddelen die representatief zijn voor een bepaalde groep voedingsmiddelen waarvan de bijdrage tot het gemiddeld dagelijkse voedselpakket hoog is. Als basis hiervoor werd rekening gehouden met het gehalte aan eiwitten, vetten, koolhydraten, voedingsvezel en anorganisch materiaal. **In functie daarvan werd gekozen voor spinazie (gehakt, diepvries), magere yoghurt en volkorenbloem als representatief voedingsmiddel uit respectievelijk groenten, zuivel- en graanproducten.**

Vetten zijn voornamelijk brandstoffen en leveren energie voor het lichaam. Het totale vetgehalte dat wij uit de voeding opnemen, moet minimaal 15% en maximaal 30% bedragen om onze energiebehoefte te dekken. Een klein gedeelte wordt gebruikt voor de weefselopbouw, terwijl anderzijds de vetten ook zorgen voor de opname van vetoplosbare vitaminen. De organische opbouw van vetten bestaat uit de elementen koolstof (C), waterstof (H) en zuurstof (O). Vetten komen onder meer voor in de vorm van triglyceriden en bestaan uit een molecule glycerol waarvan de OH - groepen veresterd zijn. Qua vetzuurpatroon onderscheiden we verzadigde en onverzadigde **vetzuren**. Het lichaam kan alle verzadigde vetzuren aanmaken die het nodig heeft. Het nadeel van het gebruik van verzadigde vetzuren is dat het gehalte aan cholesterol in het bloed toeneemt en bijgevolg de ontwikkeling van hart- en vaatziekten bevordert. In de categorie van de onverzadigde vetzuren worden enkelvoudige en meervoudige vetzuren onderscheiden. De enkelvoudige verlagen het totale cholesterolgehalte van het bloed en het gehalte aan slagaderverwoestend LDL-cholesterol. De meervoudige kunnen eveneens het cholesterolgehalte verlagen, maar verlagen daarbij gelijktijdig het gehalte aan goede HDL-cholesterol. De meervoudige onverzadigde vetzuren spelen een belangrijke rol in het voorkomen van hart- en vaatziekten en worden daarom meestal gerelateerd met essentiële vetzuren.

Linolzuur en α -linoleenzuur worden als de belangrijkste meervoudige onverzadigde vetzuren beschouwd. Vooral linolzuur speelt een belangrijke rol in het groeiproces, bevordert het herstel van de beschadigde weefsels, waarborgt de huidgaafheid en treedt op als regulerende factor van het basismetabolisme. Een andere belangrijke groep vetzuren zijn de **transvetzuren**. De ruimtelijke structuur van de transvetzuren lijkt goed op deze van de overeenkomstige verzadigde vetzuren en hebben ongeveer een rechte keten. Vergelijkbaar met de verzadigde vetzuren hebben zij een negatieve invloed op het cholesterolgehalte van het bloed: de slechte LDL-cholesterol verhoogt en de goede HDL-cholesterol verlaagt. Transvetzuren verhogen de behoefte aan essentiële vetzuren. Voor de analyse van de vetten werd gezocht naar een vleesproduct waarvan de goede smeerbaarheid te wijten is aan een hoog vetgehalte.

Er werd geopteerd voor **leverpastei** aangezien dit voedingsmiddel vetzuren bevat die afkomstig zijn van het vlees en vetzuren afkomstig van de toegevoegde vetten. Als tweede voedingsmiddel werd gekozen voor **biscuit** omdat dit voedingsmiddel voornamelijk bereid is van producten van graangewassen waarin de aanwezige vetten bijna uitsluitend bestaan uit toegevoegde vetten. Voor de analyse van vetzuren werd besloten om de volgende chemische stoffen kwantitatief te bepalen:

Verzadigde vetzuren	→ C14:0	→ Myristinezuur
	→ C16:0	→ Palmitinezuur
	→ C18:0	→ Stearinezuur
Enkelvoudig onverzadigde vetzuren	→ C16:1	→ Palmitoleïnezuur
	→ C18:1	→ Oliezuur
Meervoudig onverzadigde vetzuren	→ C18:2	→ Linolzuur

Voor de analyse van transvetzuren werd geopteerd voor de voedingsmiddelen wafels en chips.

➤ *De validatie van een specifieke analysetechniek*

Voor de uitvoering van de stabiliteits- en homogeniteitstesten werd voor de bepaling van bovenvermelde nutriënten beroep gedaan op de volgende technieken:

- Extractie volgens ISO 1443 voor de bepaling van het vetgehalte
- Gaschromatografie voor de bepaling van de vetzuren
- Hoge druk vloeistofchromatografie voor de bepaling van vitaminen
- Vlam atomaire absorptie spectrometrie voor de bepaling van mineralen.

Om de kwaliteit van de analysegegevens te verzekeren moeten de methoden gevalideerd zijn. De parameters die moeten onderzocht worden om een methode te valideren, zijn:

- De accuraatheid
- De herhaalbaarheid
- De intra – reproduceerbaarheid
- De reproduceerbaarheid
- De lineariteit en toepassingsgebied
- De aantoonbaarheidsgrens
- De bepalingsgrens
- De robuustheid

➤ *De beschikbaarheid van andere laboratoria*

Om de interlaboratorium onderzoeken uit te voeren en de passende conclusies te kunnen trekken werd in het project geopteerd om per nutriëntengroep minimaal 8 laboratoria bij de studie te betrekken. Hierbij is zowel beroep gedaan op Belgische, Nederlandse en Franse laboratoria ten einde de studie een internationaal karakter te geven. Er werd eveneens besloten geen resultaten te evalueren indien per groep van analyses geen resultaten van 5 verschillende laboratoria zouden aanwezig zijn.

2.2 **Bemonstering (1 juni 1996)**

Voor de bemonstering van de geprogrammeerde voedingsmiddelen, waarin het gehalte van vet, vetzuren, vitaminen en mineralen moet bepaald worden, werd door de leden van het consortium van het project een protocol opgesteld met vermelding van de volgende gegevens:

- **Monsternemer:** naam en telefoon
- **Laboratorium:** naam en adres
- **Monster**
 - Selectie van het voedingsmiddel
 - Wijze van monsterneming
 - Benaming van het voedingsmiddel
 - Beschrijving van het product
 - Handelsnaam van het voedingsmiddel
 - Plaats van bemonstering
 - Datum van bemonstering
 - Bemonsterde hoeveelheid
 - Lot- en volgnummer van de monsters
 - Datum minimale houdbaarheid
 - Aard van de verpakking
 - Gebruikte materialen voor bemonstering
- Technische specificaties opgelegd door het pilootlaboratorium: de monsters moeten allen uit een zelfde lot afkomstig zijn om de varianties qua samenstelling in het monster tot een minimum te beperken. Voor de analyses van vitaminen dient de monsterneming te gebeuren zo kort mogelijk na de productie en de bewaaromstandigheden tussen productie en staalneming moeten bekend zijn. Voor de verpakking van de te analyseren werden de volgende opties genomen:
 - ❖ **Leverpastei:** in individuele porties verpakken van ongeveer 100 g, vacuüm verpakt in plastic folie;
 - ❖ **Biscuits:** in individuele porties verpakken van ongeveer 50 g, vacuüm verpakt in plasticfolie;
 - ❖ **Volkorenbloem:** in individuele porties van ongeveer 50 g, in gesloten plasticzakjes;

- ❖ Drinkyoghurt: commerciële verpakkingen type Tetra-Brik of plastic flesjes met een minimum inhoud van 50 g.

Voor de monsters genomen in het kader van de bepaling van de andere groepen van nutriënten werden geen bijzondere specificaties voorgesteld.

De monsterneming is uitgevoerd door het Instituut voor Veterinaire Keuring en de Algemene Eetwareninspectie in samenwerking met drie pilootlaboratoria: Institut Paul Lambin, JM. PYCKE, voor de bepaling van vetgehalte en vetzuren in leverpastei en biscuit; Laboratorium voor Levensmiddelentechnologie, A. HUYGHEBAERT, voor de bepaling van vitamines in leverpastei, volkorenbloem en drankyoghurt; Laboratorium Bromatologie, H. DEELSTRA, voor de bepaling van mineralen en sporenelementen in spinazie, volkorenbloem en magere yoghurt.

2.3 **Stabiliteits- en homogeniteitstesten (1 juni 1996 – 31 maart 1997)**

Om de analysegegevens van nutriënten in welbepaalde gestandaardiseerde monsters van voedingsmiddelen, uitgevoerd in diverse laboratoria, al dan niet met verschillende methoden, te kunnen valideren is het noodzakelijk dat de homogeniteit en de stabiliteit van de te analyseren nutriënten in de diverse voedingsmiddelen vooraf gekend zijn. De monsters die voor het testen van de bekwaamheid van de laboratoria en voor de normalisatie van de analytische methoden worden gebruikt moeten homogeen en stabiel zijn. Om een indicatieve referentiewaarde aan deze monsters toe te kennen is tijdens de stabiliteit- en homogeniteitstesten vooral aandacht besteed aan de herhaalbaarheid en de binnenreproduceerbaarheid van de metingen en de betrouwbaarheidsgrenzen op de mediaan van de populatie van de meetresultaten. Aangezien de monsters die in een interlaboratorium onderzoek worden geanalyseerd een tijdsspanne doorlopen vanaf de monsterontvangst tot en met de analyse, is het noodzakelijk de stabiliteit van de nutriënten in de monsters te kennen, rekening houdend met de verschillende omstandigheden (vb. temperatuur) waarin de monsters worden vervoerd en bewaard.

De **homogeniteit** van de monsters werd als volgt bepaald:

- Bepaling van vet op 12 sub-monsters van het gehomogeniseerd bulkmonster leverpastei;
- Bepaling van vet op 6 sub-monsters van het bulkmonster speculaas;
- Bepaling van vetzuren op 18 sub-monsters van het bulkmonster leverpastei;
- Bepaling van de vetzuren op 17 sub-monsters van het bulkmonster biscuit;
- Bepaling van transvetzuren op 6 sub-monsters van de bulkmonsters wafel en chips;
- Bepaling van vitamine B1 op 10 sub-monsters van het bulkmonster volkorenbloem;
- Bepaling van vitamine B2 op 10 flesjes Yazoo drankyoghurt van een zelfde lotnummer;
- Bepaling van vitamine A op 10 sub-monsters van het bulkmonster leverpastei;
- Bepaling van mineralen op 10 sub-monsters van het gehomogeniseerde bulkmonster van spinazie, volkorenbloem en drankyoghurt.

Om de **stabiliteit** van de bereide monsters te testen werden de volgende tijdslijmieten en bewaaromstandigheden in acht genomen:

- Leverpastei → koelkast → dag 0,2,4,7,14,21,30 (vetten en vetzuren)
→ diepvriezer → week 0,1,2,4,8,16, 25 (vetten en vetzuren)
- Biscuit → kamertemperatuur → week 0,1,2,3,4 (vetten en vetzuren)
→ 37°C → dag 0,2,6,9,14 (vetten en vetzuren)
→ diepvriezer → week 0,1,3,8,16 (vetten en vetzuren)
- Volkorenbloem → kamertemperatuur → dag 0,1,2,7,14,30,90 (vitamine B1)
→ koelkast → dag 0,1,2,7,14,30,90 (vitamine B1)
→ diepvriezer → dag 0,1,2,7,14,30,90 (vitamine B1)
- Drinkyoghurt → koelkast → dag 0,1,2,7,14,30,90 (vitamine B2)
→ diepvriezer → dag 0,1,2,7,14,30,90 (vitamine B2)
- Leverpastei → koelkast → dag 0,1,2,7,14,30,90 (vitamine A)
→ diepvriezer → dag 0,1,2,7,14,30,90 (vitamine A)
- Spinazie → vers → dag 0,1,2,7,14,28,42,84 (mineralen)
→ gelyofiliseerd → dag 0,1,2,7,14,28,42,84 (mineralen)
- Volkorenbloem → vers → dag 0,1,2,7,14,28,42,84 (mineralen)
→ gelyofiliseerd → dag 0,1,2,7,14,28,42,84 (mineralen)
- Drinkyoghurt → vers → dag 0,1,2,7,14,28,42,84 (mineralen)
→ gelyofiliseerd → dag 0,1,2,7,14,28,42,84 (mineralen)

Bij de bepaling van de nutriënten tijdens de stabiliteitstesten werd geen rekening gehouden met eventueel gewichtsverlies van het monster.

2.4 Interlaboratorium onderzoeken (1 april 1997 – 30 juni 1998)

Aangezien dit project tot doel heeft de in België bestaande competenties en belangen bij elkaar te brengen, werd getracht een samenwerking tot stand te brengen tussen de 3 pilootlaboratoria en de laboratoria die op basis van hun ervaring aan dit onderzoek wenselijk deel te nemen. Dit werd in de praktijk omgezet door de organisatie van interlaboratorium onderzoeken. De monsters werden in de pilootlaboratoria bereid en te samen met het bemonsteringsprotocol (bijlage 1) naar de deelnemende laboratoria gebracht via de diensten van de eetwareninspectie. In het protocol werden vooral criteria beschreven die betrekking hadden op de bereidingswijze, de verpakkings- en transportomstandigheden van de monsters en de registratie en rapportering van analysegegevens. De monsters werden binnen een tijdsspanne van twee dagen aan de Belgische, Franse en Nederlandse deelnemende laboratoria overgemaakt.

De deelnemende laboratoria werden geselecteerd in functie van hun accreditatie- en erkenningsstatuut of op hun ervaring die ze met de uit te voeren analyses hadden. Aangezien voor de uitvoering van de analyses speciale apparatuur was vereist, elk laboratorium niet over dezelfde apparatuur beschikte en de analyses binnen een vooropgestelde tijdslimiet moesten uitgevoerd worden, werd beslist dat de deelnemende laboratoria de analyses met hun eigen gevalideerde methode mochten uitvoeren. Vandaar dat deze vergelijkende studie niet als een ringtest wordt beschouwd maar als een interlaboratorium onderzoek. Het **doel van dit interlaboratorium onderzoek** is de resultaten van de methoden die gebruikt worden voor de bepaling van mineralen, vitaminen A, B1 en B2, vet en vetzuren met elkaar te vergelijken en na te gaan welke methoden er kunnen geaccepteerd en genormaliseerd worden met betrekking tot de opname van analysegegevens in de voedingsmiddelentabel. Om de resultaten van het onderzoek statistisch te kunnen verwerken werd vooropgesteld dat per type analyse en per matrix resultaten van 8 laboratoria moeten ter beschikking zijn.

Op vraag van de Wetenschappelijke Raad van de vzw NUBEL werd, met instemming van DWTC, het project uitgebreid met de bepaling van transvetzuren in wafels en chips .

Aan het interlaboratorium onderzoek werd door de volgende laboratoria deelgenomen:

1. Laboratorium Bromatologie (UIA), Antwerpen (B)
2. Institut Paul Lambin, Brussel (B)
3. Laboratorium Levensmiddelentechnologie en Voeding(RUG), Gent
4. Chemiphar, Brugge (B)
5. ECCA, Zwijnaarde (B)
6. LARECO, Marche (B)
7. L.O.V.A.P., Geel (B)
8. Keuringsdienst van Waren, Maastricht (NI)
9. Keuringsdienst van Waren, 'S-Hertogenbosch (NI)
10. DVK - CLO, Melle (B)
11. SGS Agrilab, Antwerpen (B)
12. Stadslaboratorium, Gent (B)
13. Université Catholique de Louvain (UCL), Louvain-La-Neuve (B)
14. Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid – Louis Pasteur, Brussel (B)

Voor de uitvoering van het interlaboratorium onderzoek werden per matrix en per nutriënt 2 homogene monsters overgemaakt waarop drie analyses moesten uitgevoerd worden.

Vb.: leverpastei :

monster A (vitamine A) : 3 analyses x 9 deelnemende laboratoria = 27 resultaten

monster B (vitamine A) : 3 analyses x 9 deelnemende laboratoria = 27 resultaten

monster A (vetgehalte) : 3 analyses x 12 deelnemende laboratoria = 36 resultaten

monster B (vetgehalte) : 3 analyses x 12 deelnemende laboratoria = 36 resultaten

monster A (vetzuren) : 3 analyses x 12 deelnemende laboratoria = 36 resultaten

monster B (vetzuren) : 3 analyses x 12 deelnemende laboratoria = 36 resultaten

In deze stap van het onderzoek hadden de pilootlaboratoria als opdracht analyses onder voorwaarden van herhaalbaarheid uit te voeren op de homogene monsters die naar de deelnemende laboratoria moesten verstuurd worden. De gemiddelde berekende waarde van elke nutriënt zou als referentiewaarde worden beschouwd bij de statistische berekening van de analyseresultaten van het interlaboratorium onderzoek.

2.5 Statistische verwerking (september – december 1998)

Bij de statistische verwerking van de resultaten van de deelnemende laboratoria werden, overeenkomstig de criteria van de standaard ISO 5725-1 tot 6^(1 - 6), de volgende parameters onderzocht:

- Bepaling van de "stragglers" en "outliers" door middel van de Cochran test en de enkelvoudige en dubbele Grubbs test
- Aantal uitgevoerde testen (N)
- Gemiddelde waarde van de bepaalde nutriënt (X)
- Standaardafwijking op de herhaalbaarheid (σ_r)
- Relatieve standaardafwijking op herhaalbaarheid (RSD_r %)
- Standaardafwijking op de reproduceerbaarheid (σ_R)
- Relatieve standaardafwijking op reproduceerbaarheid (RSD_R %)
- Herhaalbaarheid r (95) ISO 5725 - 2
- Reproduceerbaarheid R (95) ISO 5725 - 2
- Vergelijking van methoden op basis van de F – distributie⁽⁷⁾
- Variantie analyse (ANOVA)⁽⁸⁾
- Z-score

De criteria met betrekking tot het bepalen van "stragglers" en "outliers", berekend met de Cochran en Grubbs testen, zijn opgenomen in de tabellen van de standaard ISO 5725-2.

Rekening houdend met de vergelijking van Horwitz^(9, 10) voor de berekening van de Relatieve Standaardafwijking $RSD_R = 2^{(1-0.5 \log C)}$ wordt gesteld dat de resultaten per nutriënt en per matrix tussen de laboratoria in functie van de te bepalen concentratie een bepaald percentage niet mogen overschrijden. Aangezien de vergelijking van Horwitz een maat is voor de reproduceerbaarheid (R) van de analyseresultaten tussen laboratoria, werd voor de berekening van de herhaalbaarheid (r) en binnenreproduceerbaarheid (r) een correctiefactor van **0,66** ten opzichte van de reproduceerbaarheid in rekening gebracht.

2.6 Kwaliteitsborging (ganse duur van het project)

In het kader van de validatie van methoden en resultaten is kwaliteitsborging op internationaal niveau meer en meer vereist. Dit betekent dat de rapportering en publicatie van analysegegevens internationaal gemakkelijker zullen aanvaard worden indien ze bekomen worden via een kwaliteitssysteem dat toegepast wordt overeenkomstig de criteria van een internationaal aanvaarde standaard. De standaard ISO 17025 (vroeger EN 45001) welke algemene criteria voorschrijft met betrekking tot de technische competentie van testlaboratoria, is één van de meest toegepaste standaarden op dit niveau. Om de kwaliteitsborging van het NUKWAP project op te volgen zijn er bij de pilootlaboratoria diverse audits uitgevoerd en werd bij de deelnemende laboratoria hun gevolgde meetprogramma opgevraagd om na te gaan of voldoende kwaliteitscriteria aanwezig waren die de validatie van de analysegegevens konden verzekeren. Hierbij kan gesteld worden dat het grootste gedeelte van de deelnemende laboratoria EN 45001 geaccrediteerd waren.

Binnen het NUKWAP project werden een aantal kritische fasen gedefinieerd die op basis van criteria voor kwaliteitszorg werden beoordeeld. Het betreft:

- De monsterneming en het vervoer van monsters;
- De validatie van de gevolgde analysemethode en van de resultaten van de homogeniteit- en stabiliteitstesten;
- De organisatie en uitvoering van de interlaboratorium onderzoeken;
- De verwerking en rapportering van de analysegegevens.

3. RESULTATEN

3.1 Homogeniteit- en stabiliteitstesten

3.1.1 *Vetgehalte*

De testen voor de bepaling van de homogeniteit en stabiliteit van het vet in eetwaren werd uitgevoerd door het Laboratorium voor Bromatologie van het Instituut Paul Lambin, onder de leiding van Prof. J.M. Pycke. Als eetwaren werd geopteerd voor leverpastei en biscuit.

Leverpastei is een gestructureerd product dat bekomen wordt door het koken van een mengsel van lever met andere vleesproducten, melkproducten, specerijen en soms zetmeel. Dergelijke producten kunnen een vetgehalte hebben tot 50% en zijn relatief homogeen. Biscuit (vb. speculaas) is samengesteld uit meel, suiker en vetstoffen. Het vetgehalte kan 20 tot 25% bereiken.

Er zijn verschillende definities met betrekking tot het begrip vet, welke kan toegeschreven worden aan de verschillende calorische inbreng van een triglyceride, een monoglyceride of een diglyceride. De beste benadering van het begrip vet wordt gegeven door de "Food and Drug Administration", waarbij de definitie van totaal vet wordt geformuleerd als:

Total FAT = sum of all lipid fatty acids expressed as triglycerides (i.e. fatty acids from mono-, di- and triglycerides, fatty acids, phospholipids and sterol esters).

Voor de bepaling van de homogeniteit en stabiliteit van het vet in leverpastei werden 18 zakjes van 250 gram in het Brussels Gewest aangekocht. De inhoud van deze zakjes werd gemengd in een Varimixer. Van de gemengde massa werden 42 plasticzakjes met 100 ± 5 gram leverpastei gevuld. Deze zakjes werden onder vacuum gedicht en chronologisch genummerd. De zakjes 1 tot 6 werden bewaard voor het uitvoeren van de test "homogeniteit". De overblijvende zakjes werden in twee groepen verdeeld om de test stabiliteit uit te voeren. Groep 1 bevatte 18 zakjes die bewaard werden in de koelkast bij $4 - 7^{\circ}\text{C}$. 3 zakjes werden geanalyseerd na 0, 2, 4, 7, 14, 21 en 30 dagen opslag. Groep 2 bevatte 18 zakjes die bewaard werden in de diepvriezer bij -18°C . 3 zakjes werden geanalyseerd na 0, 1, 2, 4, 8, 16 en 25 weken opslag. De zakjes, die in de diepvriezer werden bewaard, werden één nacht in de koelkast bewaard ten einde ze te ontvriezen vooraleer ze geanalyseerd werden.

Voor de bepaling van de homogeniteit en de stabiliteit van het vet in biscuit werden 2 pakken van circa 1 kg (totaal 2 kg) speculaas door NUBEL aangekocht en aan het Laboratorium Bromatologie van het Institut Paul Lambin te Brussel overgemaakt.

De totale massa werd tot fijn poeder gemalen en vervolgens in een Varimixer gebracht ten einde de totale massa goed te mengen.

Van deze gemengde massa werden plasticzakjes gevuld met ongeveer 50 gram poeder speculaas. De zakjes werden onder vacuum gedicht en chronologisch genummerd. De zakjes 1 tot 3 werden bewaard voor het uitvoeren van de test "homogeniteit", terwijl de overblijvende zakjes werden verdeeld in drie groepen voor het uitvoeren van de test "stabiliteit". Elke groep bevatte 12 zakjes van circa 50 gram gemalen speculaas. De zakjes behorende tot de groep 1 werden bewaard bij kamertemperatuur ($20 - 25^{\circ}\text{C}$). Drie zakjes werden geanalyseerd na 0, 1, 2, 3 en 4 weken opslag. De zakjes behorende tot groep 2 werden bewaard in een droogstoof bij 37°C . Drie zakjes werden geanalyseerd na 0, 2, 6, 9 en 14 dagen opslag. De zakjes behorende tot groep 3 werden bewaard in een diepvriezer bij -15 tot -18°C . Drie zakjes werden geanalyseerd na 0, 1, 3, 8 en 16 weken opslag.

Voor de bepaling van totaal vet heeft het laboratorium een genormaliseerde methode toegepast (ISO1443). 5 gram monster werd na behandeling in zuur milieu (HCl 4M), gefiltreerd, gedroogd bij kamertemperatuur en vervolgens in een Soxhlet geëxtraheerd met petroleumether 40-60. Het vetgehalte werd gemeten door het wegen, na verdrijving van het oplosmiddel. Elk monster werd in tweevoud geanalyseerd.

- De statistische gegevens betreffende de "homogeniteitstest" van vet in leverpastei en speculaas zijn samengevat in bijlage 2, tabel 1. De evaluatie van de gegevens laat toe de volgende vaststellingen te formuleren:

- **Leverpastei:**

Het gemiddeld vetgehalte (X %) in leverpastei, berekend op de resultaten van 6 monsters in duplo geanalyseerd, is 28,13% met een standaardafwijking (σ_r) van 0,47%. Het gemiddeld vetgehalte in leverpastei, vermeld in de NUBEL voedingsmiddelentabel, versie 3, bedraagt 28,90%.

De relatieve herhaalbaarheid standaardafwijking (RSD_r) is 1,69%. De indicatieve relatieve herhaalbaarheid standaardafwijking RSD_r , berekend met behulp van de Horwitz vergelijking ($RSD_r = 2^{(1-0,5 \log C)} \times 0,66$) voor analyses van referentiemateriaal, uitgevoerd onder dezelfde proefomstandigheden, is 1,61%. Dit betekent dat de RSD_r berekend op de resultaten van de homogeniteitstest iets hoger ligt dan de indicatieve RSD_r .

De limiet van de herhaalbaarheid ($r = 2,8 \times \sigma_r$) is 1,32% vetgehalte en wordt gedefinieerd als het absolute verschil waarbinnen twee testresultaten onder dezelfde proefomstandigheden met 95% zekerheid kunnen verwacht worden.

- **Speculaas:**

Het gemiddeld vetgehalte in speculaas, berekend op de resultaten van 3 monsters in duplo geanalyseerd, is 16,95% met een standaardafwijking van 0,32%. Het gemiddeld vetgehalte van speculaas, vermeld in de NUBEL voedingsmiddelentabel, versie 3, bedraagt 20,10% en is beduidend hoger dan het vetgehalte bepaald in het referentiemonster.

De relatieve herhaalbaarheid standaardafwijking (RSD_r) is 1,88%. De RSD_r , berekend met behulp van de Horwitz vergelijking voor analyses van referentiemateriaal, uitgevoerd onder dezelfde proefomstandigheden, is 1,74%. Zoals bij leverpastei is de RSD_r berekend op de resultaten van de homogeniteitstest iets hoger dan de indicatieve RSD_r .

De limiet van de herhaalbaarheid r is 0,89%.

BESLUIT:

De resultaten van het onderzoek tonen aan dat het gemiddeld vetgehalte in het monster leverpastei in overeenstemming is met de waarde gepubliceerd in de NUBEL voedingsmiddelentabel. Daarentegen is het vetgehalte, bepaald in het monster speculaas, duidelijk groter dan de waarde vermeld in de NUBEL voedingsmiddelentabel.

Aangezien de relatieve herhaalbaarheid standaardafwijkingen op het vetgehalte, bepaald in leverpastei en speculaas, iets groter is dan de indicatieve waarde, berekend met de Horwitz vergelijking, dient de analytische methode verder gevalideerd te worden.

De limieten van herhaalbaarheid voor de bepaling van het vetgehalte in leverpastei en speculaas zijn respectievelijk 1,32% en 0,89% vetgehalte. Aangezien als criterium voor de homogeniteit een variantie van 3% vetgehalte in de monsters leverpastei en speculaas is vooropgesteld kunnen we op basis van de berekende waarden voor de limieten van herhaalbaarheid stellen dat het vetgehalte in de monsters leverpastei en speculaas homogeen verdeeld is.

- De statistische gegevens betreffende de "stabiliteitstest" van vet in leverpastei zijn samengevat in bijlage 2, tabel 2. De gegevens laten toe de volgende vaststellingen te formuleren:

- **Leverpastei:**

- **❖ Bewaring tussen 2-5°C en geanalyseerd over een periode van 30 dagen**

Het totaal gemiddeld vetgehalte (X %) in leverpastei bedraagt 28,13% met een standaardafwijking (σ_r) van 0,34%. De gemiddelde minimum en maximum vetgehalten bedragen respectievelijk $27,78 \pm 0,20$ en $29,00 \pm 1,12\%$. (\pm is de maximum en minimum afwijking op het gemiddeld berekend vetgehalte)

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) bedraagt 1,21% en is lager dan de RSD_R van 2,42%, berekend met behulp van de Horwitz vergelijking.

Per tijdstip (0, 2, 4, 7, 14, 21 en 30 dagen) werden drie analyses uitgevoerd. De maximale standaardafwijking van 1,18% vetgehalte onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op dag 21.

De hieruit berekende RSD_R bedraagt 4,17% en is hoger dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,53%. Ook de waarden bekomen op dag 14 en 30 overschrijden het Horwitz criterium. Het minimum gemiddeld vetgehalte van 27,78% werd gemeten op dag 7, terwijl het maximaal gemiddeld vetgehalte van 29,00% gemeten werd op dag 30.

De limiet van de binnenreproduceerbaarheid R ($R = 2,8 \times \sigma_R$) is 0,95% vetgehalte en is gedefinieerd als het absolute verschil waarbinnen twee testresultaten in hetzelfde laboratorium onder verschillende proefomstandigheden met 95% zekerheid kunnen verwacht worden. De validatieparameter R (0,95% vetgehalte) is kleiner dan de r (1,32% vetgehalte). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat R ($N = 21$) werd berekend op een groter aantal analyses dan de r ($N = 12$).

❖ **Bewaring bij -18°C en geanalyseerd over een periode van 25 weken**

Het totaal gemiddeld vetgehalte in leverpastei bedraagt 28,38% met een standaardafwijking van 0,20%. De gemiddelde minimum en maximum vetgehalten bedragen respectievelijk $28,00 \pm 0,25$ en $28,69 \pm 0,28\%$.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) bedraagt 0,70% en is lager dan de RSD_R waarde van 2,42%, berekend met behulp van de Horwitz vergelijking.

Per tijdstip (0, 1, 2, 4, 8, 16 en 25 weken) werden drie analyses uitgevoerd. De maximale standaardafwijking van 0,28% vetgehalte onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op week 25. De hieruit berekende RSD_R bedraagt 0,98%. Deze waarde is lager dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,53%. Het minimum gemiddeld vetgehalte van 28,00% werd gemeten op week 8, terwijl het maximaal gemiddeld vetgehalte van 28,69% gemeten werd op week 25.

De validatieparameter R (0,56% vetgehalte) is kleiner dan r (1,32% vetgehalte). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat de binnenreproduceerbaarheid ($N = 21$) werd berekend op een groter aantal analyses dan de herhaalbaarheid ($N = 12$).

Om na te gaan of er een significant verschil is tussen de meetresultaten van het gemiddeld vetgehalte van de monsters, bewaard bij $2-5^\circ\text{C}$ en -18°C en geanalyseerd op verschillende tijdstippen, werd een one way ANOVA test (Microsoft Excel 97™) uitgevoerd.

De variantie op de meetresultaten van de monsters leverpastei zijn respectievelijk 0,183 (2-5°C) en 0,064 (-18°C). De F - ratio is 1,77 en kleiner dan de kritische F_{95} - ratio 4,74. Dit betekent dat de nul hypothese kan aanvaard worden waarbij kan gesteld worden dat de variantie te wijten aan de bewaringsomstandigheden niet significant verschillend is van de analytische fout te wijten aan het tijdstip van analyse.

De stabiliteit van het vetgehalte in leverpastei in functie van het tijd werd bepaald bij middel van de berekening van de halfwaarde tijd. Hierbij werd het volgend mathematisch model gebruikt:

$$X = X_0 e^{-kt}$$

X: vetgehalte in % uitgedrukt

X_0 : vetgehalte in % bij tijdstip $t = 0$

Of $\ln(X) = \ln(X_0) - kt$

k: de richtingscoëfficiënt van bovenvermelde regressielijn waarbij $\ln(\text{concentratie})$ gefit wordt in functie van de tijd

$$\text{Halfwaardetijd } (t_{1/2}) = \ln(2)/k$$

BESLUIT:

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijkingen van de analytische methode gebruikt voor de bepaling van het vetgehalte in leverpastei, bewaard bij koelkast en diepvries temperatuur, zijn duidelijk lager dan de indicatieve waarden berekend volgens Horwitz. Uit de resultaten van de stabiliteitstest kan echter besloten worden dat de analytische methode wel geschikt is voor de bepaling van het vetgehalte in leverpastei.

De limieten van de binnenreproduceerbaarheid voor de resultaten van het vetgehalte in leverpastei, bewaard bij koelkast en diepvriestemperatuur, zijn kleiner dan 1% vetgehalte wat de thesis van de homogeniteit van het vetgehalte in leverpastei bevestigt.

De stabiliteit van het vetgehalte in leverpastei onder verschillende bewaringsomstandigheden werd onderzocht op basis van de berekening van de halfwaardetijd. Figuren 1 en 2 tonen aan dat het vetgehalte niet significant wijzigt in functie van de bewaartermijn. Uit de one way ANOVA test blijkt dat de F-ratio berekend op de meetwaarden van het vetgehalte in de leverpastei, bewaard onder verschillende temperatuursomstandigheden, lager is dan de kritische F_{95} - ratio. Bijgevolg kunnen de monsters leverpastei zowel onder koelkast als onder diepvries omstandigheden bewaard worden tijdens de organisatie en realisatie van een interlaboratorium onderzoek.

Het gehomogeniseerde monster leverpastei kan als referentiemateriaal voor interlaboratoriumonderzoek gebruikt worden als de materialen tijdens het vervoer en vóór het uitvoeren van de analyse onder koelkast- of diepvriesomstandigheden bewaard worden en binnen de 30 dagen geanalyseerd worden.

- De statistische gegevens betreffende de "stabiliteitstest" van vet in speculaas zijn samengevat in bijlage 2, tabel 3. De evaluatie van de gegevens laat toe de volgende vaststellingen te formuleren:

- Speculaas:

- ❖ **Bewaring bij kamertemperatuur (20–25°C) en geanalyseerd over een periode van 4 weken**

Het totaal gemiddeld vetgehalte in speculaas bedraagt 16,98% met een standaardafwijking van 0,13%. De gemiddelde minimum en maximum vetgehalten bedragen respectievelijk $16,84 \pm 0,10$ en $17,21 \pm 0,04\%$.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) bedraagt 0,77% en is kleiner dan de RSD_R waarde van 2,61%, berekend met behulp van de Horwitz vergelijking.

Per tijdstip (0, 1, 2, 3 en 4 weken) werden drie analyses uitgevoerd. De maximale standaardafwijking van 0,37% onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op week 2. De hieruit berekende RSD_R bedraagt 2,19%. Deze ligt hoger dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,74%. Het minimum gemiddeld vetgehalte van 16,84% werd gemeten op week 4, terwijl het maximaal gemiddeld vetgehalte van 17,21% gemeten werd op dag week 1.

De validatieparameter R (0,36%) is kleiner dan de r (0,89%). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat de limiet van de binnenreproduceerbaarheid ($N = 15$) werd berekend op een groter aantal analyses dan de limiet van de herhaalbaarheid ($N = 6$).

- ❖ **Bewaring in een droogstoof bij 37°C en geanalyseerd over een periode van 14 dagen**

Het gemiddeld vetgehalte in speculaas bedraagt 16,82% met een standaardafwijking van 0,37%. De gemiddelde minimum en maximum vetgehalten bedragen respectievelijk $16,07 \pm 0,52$ en $17,11 \pm 0,06\%$.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) bedraagt 2,20% en is kleiner dan de RSD_R waarde van 2,61%, berekend met behulp van de Horwitz vergelijking.

Per tijdstip (0, 2, 6, 9 en 14 dagen) werden drie analyses uitgevoerd. De maximale standaardafwijking van 0,52% onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op dag 2. De hieruit berekende RSD_r bedraagt 3,24%. Deze ligt hoger dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,74%. Het minimum gemiddeld vetgehalte van 16,07% werd gemeten op dag 2, terwijl het maximaal gemiddeld vetgehalte van 17,11% gemeten werd op dag 14.

De validatieparameter R (1,04%) is slechter dan de r (0,89%). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat de limiet van de binnenreproduceerbaarheid ($N = 15$) werd berekend op een groter aantal analyses dan de limiet van de herhaalbaarheid ($N = 6$).

❖ **Bewaring bij -18°C en geanalyseerd over een periode van 26 weken.**

Het gemiddeld vetgehalte in speculaas, bedraagt 17,24% met een standaardafwijking van 0,17%. De gemiddelde minimum en maximum vetgehalten bedragen respectievelijk $16,95 \pm 0,26$ en $17,49 \pm 0,26\%$.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) is 0,99% en kleiner dan de RSD_R waarde van 2,61%, berekend met behulp van de Horwitz vergelijking.

Per tijdstip (0, 1, 3, 8 en 16 weken) werden drie analyses uitgevoerd. De maximale standaardafwijking van 0,26% onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyses uitgevoerd op week 0 en 1. De hieruit berekende RSD_r bedraagt 1,51%. Deze waarde ligt lager dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,74%. Het minimum gemiddeld vetgehalte van 16,95% werd gemeten op week 0, terwijl het maximaal gemiddeld vetgehalte van 17,49% gemeten werd op week 1.

De validatieparameter R (0,48%) is kleiner dan de r (0,89%). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat de limiet van de binnenreproduceerbaarheid ($N = 15$) werd berekend op een groter aantal analyses dan de limiet van de herhaalbaarheid ($N = 6$). Rekening houdend met bovenvermelde gegevens werd het significant verschil tussen de meetresultaten van het gemiddeld vetgehalte van de monsters, bewaard bij verschillende temperatuursomstandigheden en geanalyseerd op verschillende tijdstippen, door middel van een one way ANOVA test berekend.

De varianties op de meetresultaten van de monsters speculaas, bewaard bij verschillende temperaturen, zijn respectievelijk 0,020 (20-25°C), 0,183 (37°C) en 0,040 (-18°C). De F-ratio is 2,78 en lager dan de kritische F_{95} - ratio van 3,89. Dit betekent dat de nul hypothese kan aanvaard worden waarbij kan gesteld worden dat de variantie in de meetresultaten te wijten aan de bewaringsomstandigheden niet significant verschillend is van de variantie te wijten aan het tijdstip van analyse.

De stabiliteit van het vetgehalte in speculaas in functie van het tijd werd bepaald bij middel van de berekening van de halfwaarde tijd. (Figuren 3 – 5)

BESLUIT:

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijkingen berekend op basis van de meetresultaten bekomen met de analytische methode gebruikt voor de bepaling van het vetgehalte in speculaas, bewaard bij 37°C, kamer en diepvriestemperatuur, zijn duidelijk lager dan de indicatieve waarden berekend volgens Horwitz. De resultaten van deze stabiliteitstest bevestigen dat de toegepaste analytische methode wel geschikt is voor de bepaling van het vetgehalte in leverpastei.

De limieten van de binnenreproduceerbaarheid voor de resultaten van het vetgehalte in speculaas, bewaard bij 37°C, kamer en diepvriestemperatuur, zijn kleiner of gelijk dan 1% vetgehalte wat de thesis van de homogeniteit van het vetgehalte in speculaas bevestigt.

De stabiliteit van het vetgehalte in speculaas onder verschillende bewaringsomstandigheden werd onderzocht op basis van de berekening van de halfwaardetijd. Figuren 3 - 5 tonen aan dat het vetgehalte niet significant wijzigt in functie van de bewaartermijn.

Uit de one way ANOVA test blijkt dat de F-ratio berekend op de meetwaarden van het vetgehalte in speculaas, bewaard onder verschillende temperatuursomstandigheden, lager is dan de kritische F_{95} - ratio. Bijgevolg kunnen de monsters speculaas zowel bij 37°C, kamer en diepvriesomstandigheden bewaard worden tijdens de organisatie en realisatie van een interlaboratorium onderzoek.

Het gehomogeniseerde monster speculaas kan als referentiemateriaal voor interlaboratoriumonderzoek gebruikt worden als de materialen tijdens het vervoer en vóór het uitvoeren van de analyse bij 37°C, kamer of diepvriestemperatuur worden bewaard en binnen de 15 dagen worden geanalyseerd.

3.1.2 Gehalte aan vetzuren

De testen voor de bepaling van de homogeniteit en stabiliteit van de vetzuren in eetwaren werd uitgevoerd door het Laboratorium voor Bromatologie van het Instituut Paul Lambin, onder de leiding van Prof. J.M. Pycke. Als eetwaren werd geopteerd voor leverpastei en biscuit.

Vetzuren zijn een substantieel gedeelte van totaal vet en bevatten verschillende hoeveelheden koolstof, waterstof en zuurstof.

De meest voorkomende vetzuren in eetwaren bevatten 16 of 18 koolstofatomen en hebben meestal een rechte keten. Andere vetzuren hebben een langere of kortere keten waarbij het aantal koolstofatomen varieert van 4 tot 26. In eetwaren en in het menselijk lichaam zijn de vetzuren gewoonlijk gecombineerd met moleculen glycerol. Naarmate één, twee of drie moleculen vetzuur gebonden worden met één molecule glycerol bekomt men mono-, di- of triglyceriden.

Met betrekking tot het onderzoek van het gehalte aan vetzuren in leverpastei en speculaas werden de verzadigde vetzuren (som van de gehalten vetzuur C14, C16, C18 en C20), de monoonverzadigde vetzuren (som van de gehalten vetzuur C16:1, C18:1, C20:1 en C22:1), de polyonverzadigde vetzuren (som van de gehalten vetzuur C18:2, C18:4, C20:4 en C22:2) en de transvetzuren bepaald. De transvetzuren worden gevormd bij gedeeltelijke hydrogenatie van vetten en oliën. Bij de commerciële hydrogenatie wordt vooral het C18:1 transvetzuur (elaïdinezuur) gevormd, terwijl bij biohydrogenatie trans-vacceenzuur de belangrijkste component is. Transvetzuur van linolzuur en C16:1, C20:1 en C22:1 transvetzuren kunnen ook in diverse oliën en vetten voorkomen. Aangezien hun rol in de gezondheid progressief toeneemt is de bepaling ervan in vetten en oliën uitermate belangrijk.

Voor de bepaling van de vetzuren werd vooraf het vet geëxtraheerd ⁽⁶⁾ na enzymatische hydrolyse. Met deze methode kunnen tijdens het filtreren, afgieten, scheiden en wassen aanzienlijke verliezen optreden. Daardoor dient een interne standaard gebruikt te worden. Vervolgens worden de vetzuren door methylering veresterd en gaschromatografisch bepaald. De verestering van de vetzuren werd uitgevoerd met boortrifluoride (BF₃) en zwavelzuur (H₂SO₄). Voor de bepaling van de homogeniteit en stabiliteit van de vetzuren in de monsters leverpastei en speculaas werden dezelfde monsters gebruikt als deze voor de bepaling van totaal vet. Van elk zakje monster werd respectievelijk 5 gram leverpastei en 6 gram speculaas afgewogen. Het vet werd kwantitatief opgelost in een mengsel van chloroform – methanol en aan een aliquot van deze oplossing werd een bepaalde hoeveelheid interne standaard ¹³C-methylester toegevoegd.

Na het wassen van de oplossing met water werden de laatste sporen water in de oplossing verwijderd door filtreren op natriumsulfaat. Vervolgens werd het grootste deel van het solvent op de rotavapor afgedampt en het overblijvend gedeelte onder stikstof drooggedampt. De vetzuren, geëxtraheerd uit leverpastei, werden veresterd via zure catalyse. De vetzuren, geëxtraheerd uit speculaas, werden veresterd via basische catalyse.

De gaschromatografische scheiding van de veresterde vetzuren werd uitgevoerd op een polaire SIL-88 kolom van 50 meter. De veresterde vetzuren, afkomstig uit leverpastei, werden geanalyseerd bij een kolomtemperatuur van 170 tot 210°C en van 80 tot 220°C voor de veresterde vetzuren, afkomstig uit speculaas. Het gehalte van elk veresterd vetzuur wordt procentueel uitgedrukt ten opzichte van het totaal aan veresterde vetzuren dat via gaschromatografie wordt bepaald.

- De statistische gegevens betreffende de "homogeniteitstest" van vetzuren in leverpastei en speculaas zijn samengevat in bijlage 2, tabellen 4 en 5. De gegevens laten toe de volgende vaststellingen te formuleren:

- **Leverpastei:**

Het gemiddeld gehalte aan verzadigde, mono-onverzadigde, polyonverzadigde en transvetzuren in leverpastei, berekend op de resultaten van 12 geanalyseerde monsters, bedraagt respectievelijk 38,40 – 44,63 – 16,25 en 0,73% met een standaardafwijking van 0,54 – 0,40 – 0,19 en 0,02%. Bij de groep van de polyonverzadigde vetzuren vertegenwoordigt linolzuur 13,7% (standaardafwijking 0,13%). De gemiddelde waarden van verzadigde, mono-onverzadigde en polyonverzadigde vetzuren in leverpastei, vermeld in de NUBEL voedingsmiddelentabel, versie 3, zijn respectievelijk 29,4 – 44,6 en 11,8%. De waarde voor linolzuur bedraagt 11,8%. Deze waarden zijn beduidend lager dan deze bepaald in het pilootmonster. De waarden voor mono-onverzadigde vetzuren is praktisch gelijk.

De RSD, waarden bedragen respectievelijk 1,41 - 0,90 - 1,16 en 2,74% en zijn lager dan de overeenkomstige indicatieve Horwitz waarden (1,54 – 1,51 – 1,75 en 2,80%), berekend voor analyses uitgevoerd op referentiematerialen onder dezelfde proefomstandigheden.

De limieten van de herhaalbaarheid ($r = 2,8 \times \sigma_r$) voor de verzadigde, mono-onverzadigde, polyonverzadigde en transvetzuren in leverpastei zijn respectievelijk 1,51 – 1,12 – 0,53 en 0,06%.

▪ **Speculaas:**

Het gemiddeld gehalte aan verzadigde, monoonverzadigde, polyonverzadigde en transvetzuren in speculaas, berekend op de resultaten van 6 geanalyseerde monsters, bedraagt respectievelijk 68,48 – 24,89 – 4,24 en 2,39% met een standaardafwijking van 0,69 – 0,57 – 0,18 en 0,21%. Het linolzuur vertegenwoordigt 3,51% (standaardafwijking 0,17%) van het gehalte aan polyonverzadigde vetzuren. De gemiddelde waarden van verzadigde, monoonverzadigde en polyonverzadigde vetzuren in speculaas, vermeld in de NUBEL voedingsmiddelentabel, versie 3, zijn respectievelijk 45,3 – 33,8 en 10,4%. De waarde voor linolzuur bedraagt 10,0%. De waarde van de verzadigde vetzuren in het pilootmonster is beduidend hoger dan de NUBEL waarde, en beduidend lager voor de monoonverzadigde en polyonverzadigde vetzuren, alsook voor linolzuur.

De RSD, waarden bedragen respectievelijk 1,01 – 2,30 – 4,50 en 8,58% en zijn lager dan de overeenkomstige indicatieve Horwitz waarden (1,41 – 1,64 – 2,15 – 2,34%), berekend voor analyses uitgevoerd op materialen onder dezelfde proefomstandigheden.

De limieten van herhaalbaarheid van de analytische methode voor de verzadigde, monoonverzadigde, polyonverzadigde en transvetzuren in speculaas bedraagt respectievelijk 1,93 – 1,60 – 0,50 en 0,59%.

BESLUIT:

De resultaten van het onderzoek tonen aan dat de gemiddelde waarden van de onderzochte vetzuren, bepaald in leverpastei en speculaas, meestal beduidend verschillend zijn van de waarden gepubliceerd in de NUBEL voedingsmiddelentabel.

Aangezien de relatieve herhaalbaarheid standaardafwijkingen op het vetgehalte, bepaald in leverpastei en speculaas, kleiner zijn dan de indicatieve waarde, berekend met de Horwitz vergelijking, kunnen we aannemen dat de analytische methode geschikt is om de vetzuren in diverse matrices te bepalen.

De limieten van herhaalbaarheid voor de bepaling van de vetzuren in leverpastei en speculaas zijn maximum 2%. Aangezien een variantie van 3% vetzuur als criterium voor homogeniteit is vooropgesteld kunnen we op basis van de berekende waarden voor de limieten van herhaalbaarheid stellen dat de vetzuren in de monsters leverpastei en speculaas homogeen verdeeld zijn.

- De statistische gegevens betreffende de test “**stabiliteit**” van **vetzuren in leverpastei** zijn samengevat in bijlage 2, tabel 6. De gegevens laten toe de volgende vaststellingen te formuleren:

- **Verzadigd vetzuur**

- ❖ **Bewaring bij 2 – 5°C en geanalyseerd over een periode van 30 dagen.**

Het gemiddeld gehalte aan verzadigd vetzuur in leverpastei bedraagt 39,11% met een standaardafwijking van 0,42%. De gemiddelde minimum en maximum gehalten verzadigd vetzuur bedragen respectievelijk $38,40 \pm 0,25$ en $39,81 \pm 0,42\%$.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) bedraagt 1,07% en is kleiner dan de RSD_R waarde van 2,30%, berekend op basis van de vergelijking van Horwitz.

Per tijdstip (0, 2, 4, 7, 14, 21 en 30 dagen) werden drie analyses uitgevoerd. Het gemiddeld maximum gehalte aan verzadigd vetzuur bedraagt 39,81% (Dag 7) en het gemiddeld minimum gehalte 38,40%. (Dag 0) De maximale standaardafwijking van 0,90% verzadigd vetzuur onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op dag 2. De RSD_R waarden, berekend op het totaal gemiddeld en individuele gemiddelden liggen lager dan de indicatieve Horwitz waarde van 2,30%.

De limiet van de binnenreproduceerbaarheid R (1,18%) is kleiner dan de limiet herhaalbaarheid (1,51%). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat de binnenreproduceerbaarheid ($N = 21$) werd berekend op een groter aantal analyses dan de herhaalbaarheid ($N = 12$).

- ❖ **Bewaard bij –18°C en geanalyseerd over een periode van 25 weken.**

Het gemiddeld gehalte aan verzadigd vetzuur in leverpastei bedraagt 38,70% met een standaardafwijking van 0,38%. De gemiddelde minimum en maximum gehalten verzadigd vetzuur bedragen respectievelijk $38,28 \pm 0,17$ en $39,64 \pm 0,38\%$.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) bedraagt 0,98%. Het indicatief criterium van binnenreproduceerbaarheid, bepaald op basis van de vergelijking van Horwitz, is 2,31% en bijgevolg hoger dan de RSD_R waarde van de bekomen meetresultaten.

Per tijdstip (0, 1, 2, 4, 8, 6 en 25 weken) werden drie analyses uitgevoerd. Het maximum gehalte aan verzadigd vetzuur bedraagt 39,64% (Week 1) en het minimum gehalte 38,28% (Week 4). De maximale standaardafwijking van 0,80% onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op week 8. De hieruit berekende RSD_r bedraagt 2,08% en is duidelijk hoger dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,54%. Voor de andere RSD_r waarden is aan het criterium van Horwitz betreffende herhaalbaarheid voldaan.

De limiet van de binnenreproduceerbaarheid R (1,06%) is kleiner dan de limiet van de herhaalbaarheid (1,51%). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat de binnenreproduceerbaarheid ($N = 21$) werd berekend op een groter aantal analyses dan de herhaalbaarheid ($N = 12$).

De variantie en het significant verschil tussen de resultaten van het gemiddeld gehalte aan verzadigd vetzuur in de twee meetreeksen werden, in functie van de bewaringsomstandigheden en het tijdstip van analyse, werden onderzocht met de one way ANOVA test. De variantie op de resultaten van de twee meetreeksen is respectievelijk 0,326 (2-5°C) en 0,224 (-18°C). De F - ratio is 2,15 en kleiner dan de kritische F_{95} - ratio 4,75. Dit betekent dat de nul hypothese kan aanvaard worden waarbij kan gesteld worden dat de variantie in de meetresultaten te wijten aan de bewaringsomstandigheden niet significant verschillend is van de variantie te wijten aan het tijdstip van analyse. De stabiliteit van het gehalte verzadigd vetzuur in leverpastei in functie van het tijd werd bepaald bij middel van de berekening van de halfwaarde tijd. (Figuren 6 - 7)

- *Monoonverzadigd vetzuur*

- ❖ **Bewaring bij 2-5°C en geanalyseerd over een periode van 30 dagen.**

Het gemiddeld gehalte aan monoonverzadigd vetzuur in leverpastei bedraagt 44,50% met een standaardafwijking van 0,13%.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) bedraagt 0,29% en is kleiner dan de RSD_R waarde van 2,26%, bepaald op basis van de vergelijking van Horwitz.

Per tijdstip (0, 2, 4, 7, 14, 21 en 30 dagen) werden drie analyses uitgevoerd. Het gemiddeld maximum gehalte aan monoonverzadigd vetzuur bedraagt 44,74% (Dag 2) en het gemiddeld minimum gehalte 44,25% (Dag 14). De maximale standaardafwijking onder dezelfde proefomstandigheden is 0,63% en werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op dag 2. De hieruit berekende RSD_r bedraagt 1,41% en ligt lager dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,51%.

Het gemiddeld minimum gehalte aan monoonverzadigd vetzuur van 44,25% werd gemeten op dag 14, terwijl het gemiddeld maximum gehalte van 44,74% werd gemeten op dag 2.

De limiet van de binnenreproduceerbaarheid R (0,36%) is kleiner dan de limiet van de herhaalbaarheid (1,12%). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat de binnenreproduceerbaarheid (N = 21) werd berekend op een groter aantal analyses dan de herhaalbaarheid (N = 12).

❖ **Bewaring bij -18°C en geanalyseerd over een periode van 25 weken.**

Het gemiddeld gehalte monoonverzadigd vetzuur in leverpastaai bedraagt 44,47% met een standaardafwijking van 0,19%.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) bedraagt 0,43% en is kleiner dan de RSD_R waarde van 2,26%, bepaald op basis van de vergelijking van Horwitz.

Per tijdstip (0, 1, 2, 4, 8, 6 en 25 weken) werden drie analyses uitgevoerd. Het gemiddeld maximum gehalte aan monoonverzadigd vetzuur bedraagt 44,75% (Week 4) en het minimum gehalte 44,14% (Week 8). De maximale standaardafwijking van 0,69% onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op week 8. De hieruit berekende RSD_R bedraagt 1,56% en is iets hoger dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,51%. Het gemiddeld minimum gehalte aan monoonverzadigd vetzuur van 44,14% werd gemeten in week 8, terwijl het gemiddeld maximum gehalte van 44,75% werd gemeten in week 4.

De limiet van de binnenreproduceerbaarheid R (0,53%) is kleiner dan de limiet van de herhaalbaarheid (1,12%). Een mogelijke verklaring voor dit onverwacht resultaat is dat de binnenreproduceerbaarheid (N = 21) werd berekend op een groter aantal analyses dan de herhaalbaarheid (N = 12).

De variantie en het significant verschil tussen de resultaten van het gemiddeld gehalte aan monoonverzadigd vetzuur in de twee meetreeksen werden, in functie van de bewaringsomstandigheden en het tijdstip van analyse, werden onderzocht met de one way ANOVA test. De variantie op de resultaten van de twee meetreeksen is respectievelijk 0,029 (2-5°C) en 0,054 (-18°C). De F - ratio is 0,06 en kleiner dan de kritische F_{95} - ratio 4,75. Dit betekent dat de nul hypothese kan aanvaard worden waarbij kan gesteld worden dat de variantie in de meetresultaten te wijten aan de bewaringsomstandigheden niet significant verschillend is van de variantie te wijten aan het tijdstip van analyse.

De stabiliteit van het gehalte monoonverzadigd vetzuur in leverpastei in functie van het tijd werd bepaald bij middel van de berekening van de halfwaarde tijd. (Figuren 8 - 9)

▪ *Polygonverzadigd vetzuur*

❖ **Bewaring bij 2-5°C en geanalyseerd over een periode van 30 dagen**

Het gemiddeld gehalte aan polygonverzadigd vetzuur in leverpastei bedraagt 15,66% met een standaardafwijking van 0,41%.

De relatieve binnenreproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) van 2,62% is gelijk aan de RSD_R waarde van 2,64%, bepaald op basis van de vergelijking van Horwitz.

Per tijdstip (0, 2, 4, 7, 14, 21 en 30 dagen) werden drie analyses uitgevoerd. Het gemiddeld maximum gehalte aan polygonverzadigd vetzuur bedraagt 16,33% (Dag 21) en het gemiddeld minimum gehalte 14,98% (Dag 7). De maximale standaardafwijking onder dezelfde proefomstandigheden is 0,32% en werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op dag 2. De hieruit berekende RSD_R bedraagt 2,11% en ligt hoger dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,76%. De andere berekende RSD_R waarden liggen lager dan de indicatieve Horwitz waarde. Het gemiddeld minimum gehalte aan polygonverzadigd vetzuur van 14,98% werd gemeten op dag 7, terwijl het gemiddeld maximum gehalte aan polygonverzadigd vetzuur van 16,33% werd gemeten op dag 21.

De limiet van de binnenreproduceerbaarheid R (1,15%) is groter dan de limiet van de herhaalbaarheid (0,53%).

❖ **Bewaring bij -18°C en geanalyseerd over een periode van 25 weken.**

Het gemiddeld gehalte aan polygonverzadigd vetzuur in leverpastei bedraagt 16,10% met een standaardafwijking van 0,33%.

De relatieve binnen reproduceerbaarheid standaardafwijking (RSD_R) van 2,05% is kleiner dan de RSD_R waarde van 2,63%, bepaald op basis van de vergelijking van Horwitz.

Per tijdstip (0, 1, 2, 4, 8, 6 en 25 weken) werden drie analyses uitgevoerd. Het gemiddeld maximum gehalte aan polygonverzadigd vetzuur bedraagt 16,77% (Week 8) en het gemiddeld minimum gehalte 15,39% (Week 1). De maximale standaardafwijking van 0,21% onder dezelfde proefomstandigheden werd bekomen voor de analyse uitgevoerd op week 8. De hieruit berekende RSD_R bedraagt 1,25% en is lager dan de indicatieve Horwitz waarde van 1,51%.