

Problematika določanja vsebnosti prehranske vlaknine – vpliv frakcije mletja in načina mešanja vzorca

Blaž FERJANČIČ¹, Jasna BERTONCELJ²

Received November 23, 2017; accepted February 06, 2018.

Delo je prispejlo 23. novembra 2018, sprejeto 06. februarja 2018.

IZVLEČEK

Prehranska vlaknina je pomembna sestavina zdrave prehrane, predstavlja neprebavljive ogljikove hidrate in lignin. V zadnjih desetletjih je zaradi dokazanih ugodnih vplivov na zdravje pridobila na pomenu za humano prehrano. Poleg klasičnih encimsko-gravimetričnih metod so bile v zadnjem času razvite nove metode za določanje skupne, netopne in topne prehranske vlaknine v živilih, vendar še niso popolnoma vpeljane v uporabo. Za namen oblikovanja podatkovnih baz o sestavi živil in za označevanje živil se še vedno uporabljata klasični metodi AOAC 985.29 in 991.43. Metodi sta encimsko-gravimetrični in zaradi tega občutljivi na encimsko kinetiko. Cilj študije je bil preveriti vpliv frakcije mletja vzorca in mešanja vzorca na določitev vsebnosti prehranske vlaknine z metodo AOAC 991.43. Rezultati so pokazali, da mletje pomembno vpliva na določitev prehranske vlaknine, še posebej, če določamo prehransko vlaknino v nepredelanih ali malo predelanih žitih. Kot najbolj primerno se je izkazalo mletje vzorca med 200 in 500 μm , mešanje pa je delovalo sinergistično z mletjem. Za natančno določitev vsebnosti prehranske vlaknine je potrebno pravilno pripraviti vzorec, saj je metoda AOAC 991.43 kljub svoji robustnosti občutljiva v fazi priprave vzorca.

Ključne besede: prehranska vlaknina, AOAC uradne metode, žita za zajtrk, mletje, fracioniranje, mešanje

ABSTRACT

DETERMINATION OF DIETARY FIBRE – THE INFLUENCE OF MILLING FRACTION AND MIXING PROCESS

Dietary fibre is an important constituent of a healthy diet, composed of non-digestible carbohydrates and lignin. Over the last decades dietary fibre has gained importance for human nutrition, due to its beneficial effects on health. In addition to classical enzyme-gravimetric methods, new methods for the determination of total, insoluble and soluble dietary fibres in foods have recently been developed, but have not yet been fully implemented for use. For the purpose of creating food composition databases and for food labelling, the classical AOAC 985.29 and 991.43 methods are still widely used. The methods are enzyme-gravimetric and therefore sensitive to enzyme kinetics. The aim of the study was to investigate the effect of milling fraction and mixing of the sample on dietary fibre content determined with the AOAC method 991.43. The results showed that milling fraction significantly influences the content of dietary fibre, especially in unprocessed or slightly processed cereals, the mixing acts synergistically with milling. According to the results it is proposed to mill the sample between 200 and 500 μm . For accurate determination of dietary fibre content, it is necessary to prepare the sample correctly, since the AOAC 991.43 method is, despite its robustness, sensitive during the sample preparation step.

Key words: dietary fibre, AOAC official methods, breakfast cereals, milling, fractionation, mixing

¹ mag. inž. prehrane, mladi raziskovalec; Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana; e-mail: blaz.ferjancic@bf.uni-lj.si

²izr. prof. dr.; Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana; e-mail: jasna.bertoncelj@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Prehranska vlaknina je pomemben del uravnotežene prehrane in za človeka predstavlja pomembne varovalne snovi, ker ugodno vpliva na nekatere funkcije v prebavnem traktu in ima številne pozitivne učinke na preprečevanje pojava kroničnih nenalezljivih bolezni. Prehransko vlaknino predstavljajo ogljikovi hidrati ali ogljikovim hidratom podobne spojine, ki so odporne na prebavo in absorpcijo v tankem črevesu človeka, se pa popolno ali delno fermentirajo v debelem črevesu pod vplivom črevesne mikrobiote (Kendall in sod., 2011; Fuller in sod., 2016). Konvencionalna razdelitev prehranske vlaknine je glede na topnost v vodi na topno prehransko vlaknino (TPV), kamor prištevamo necelulozne polisaharide, oligosaharide, topne pektine, β -glukane in gume, ter netopno prehransko vlaknino (NPV), ki jo predstavljajo celuloza, hemiceluloza in lignin (Dai in Chau, 2017; Li in Komarek, 2017). Povečan vnos prehranske vlaknine pripomore k rednemu odvajanju ter zmanjšuje tveganje za pojav srčno-žilnih obolenj, debelosti, sladkorne bolezni tipa 2, bolezni prebavil in rakavih obolenj (Dahl in Stewart, 2015; Perry in Ying, 2016; Tarcea in sod., 2017; Fernstrand in sod., 2017). Priporočila za vnos prehranske vlaknine se nekoliko razlikujejo. Referenčne vrednosti za vnos hranil navajajo kot priporočen dnevni vnos vsaj 30 g vlaknine dnevno (Referenčne vrednosti..., 2016). Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) pa za odrasle priporoča vnos vsaj 25 g prehranske vlaknine dnevno za normalno odvajanje, za zmanjšanje tveganja za razvoj kroničnih nenalezljivih bolezni pa je potreben večji vnos (EFSA, 2010; EFSA, 2017). Ocenjeni vnos pri prebivalcih razvitih držav je precej manjši od navedenih priporočil (Li in Komarek, 2017; Stephen in sod., 2017). Prehranska vlaknina je pretežno v živilih rastlinskega izvora, predvsem v žitih, stročnicah, sadju, zelenjavi, oreških ter izdelkih iz njih. V žitnih zrnih se nahaja v perikarpu in alevronski plasti. Na voljo so tudi živila, obogatena s prehransko vlaknino, in prehranska dopolnila (Golob in sod., 2012). Od leta 2009 je s strani komisije Codex Alimentarius prehranska vlaknina definirana kot polimerni ogljikovi hidrati z desetimi ali več monomernimi enotami in lignin, ki se ne hidrolizirajo z endogenimi encimi v človeškem tankem črevesu in spadajo v naslednje kategorije: i.) užitni polimerni ogljikovi hidrati in lignin, ki so naravno prisotni v živilih, ii.) polimerni ogljikovi hidrati, ki so bili pridobljeni iz surovega živila z uporabo fizikalnih, kemijskih ali encimskih metod in za katere je bilo dokazano, da imajo fiziološki učinek ali pripomorejo k zdravju in iii.) sintetični polimerni ogljikovi hidrati, za katere je dokazan fiziološki učinek ali ugoden vpliv na zdravje. Nacionalne institucije pa se odločijo, ali vključijo v definicijo tudi neprebavljive ogljikove hidrate s 3 do 9 monomernimi enotami (CAC, 2017; Dai in Chau, 2017). Konsenz, ki so ga sprejeli z

novi definicijo prehranske vlaknine, je razrešil polemiko o vključevanju lignina in sintetično pridobljenih neprebavljivih ogljikovih hidratov v skupino prehranske vlaknine (Westenbrink in sod., 2013). Nova definicija je tudi prekinila tradicijo definiranja prehranske vlaknine preko analitskih postopkov za njeno določanje, saj je bila oblikovana na podlagi fizioloških učinkov (McCleary, 2013). V Uredbi (EU) št. 1169/2011 Evropskega parlamenta in Sveta o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom pa je skladno z Direktivo Komisije 2008/100/ES prehranska vlaknina opredeljena kot polimerni ogljikovi hidrati s tremi ali več monomernimi enotami, ki se ne prebavijo niti absorbirajo v tankem črevesu človeka, ter vključuje naravno prisotne užitne polimerne ogljikove hidrate in tudi tiste, ki so bili pridobljeni iz surovine za živilo s fizikalnimi, kemijskimi ali encimskimi sredstvi ter užitne sintetične polimere ogljikovih hidratov.

Za določanje vsebnosti prehranske vlaknine je razvitih in uradno predpisanih več metod, tako za določanje skupne prehranske vlaknine (SPV), TPV in NPV, kot tudi za določanje posameznih komponent vlaknine (Preglednica 1). Metode so se spreminjale in posodabljale skladno s spreminjanjem definicije za prehransko vlaknino. Metode na splošno delimo na encimsko-gravimetrične in encimsko-kemijske metode. Slednje vključujejo kvantitativno določanje vsebnosti vlaknine s pomočjo kolorimetrije, plinske kromatografije (GC) ali tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC). Encimsko-gravimetrične metode so relativno enostavne, cenovno dostopne, dokaj hitre in dovolj robustne za rutinsko analizo, vendar ne zagotavljajo podrobnega profila za različne komponente vlaknine in ne vključujejo nizkomolekularnih komponent (oligosaharidov). Kolorimetrične analize večinoma zahtevajo referenčno metodo za zanesljivo interpretacijo rezultatov zaradi nespecifičnih barvnih reakcij reducirajočih sladkorjev. Kvantitativna določitev vsebnosti vlaknine z uporabo HPLC ali GC, ki sta vključeni v novejši metode določanja vlaknine (metodi AOAC 2009.01 in AOAC 2011.25), omogoča določanje vseh komponent prehranske vlaknine, tudi nizkomolekularnih polimernih ogljikovih hidratov (s 3 do 9 monomernimi enotami), in je idealna, kadar obravnavano živilo vsebuje neznano količino in vrsto vlaknine. Vendar pa so te metode dolgotrajne in zelo drage ter zahtevajo tudi ekonomsko veliko začetno investicijo in zelo usposobljeno osebje (Monro, 2015; Li in Komarek, 2017). Tradicionalni metodi za določanje prehranske vlaknine sta encimsko-gravimetrični metodi AOAC 985.29 in 991.43 za določanje SPV oz. ločeno TPV in NPV. Metodi AOAC 2009.01 in 2011.25 pa sta zasnovani tako, da zajemata vse komponente prehranske vlaknine, kot je navedeno v trenutno veljavni definiciji,

nista pa še široko uporabljeni za oblikovanje podatkovnih baz o sestavi živil (Zielinski in Rozema, 2013; Fuller in sod., 2016).

Preglednica 1: Uradne AOAC metode za določanje prehranske vlaknine in njenih komponent (DeVries, 2010; Li in Komarek, 2017)

Table 1: Official AOAC methods for determination of dietary fibre and individual specific components (DeVries, 2010; Li and Komarek, 2017)

Vrsta prehranske vlaknine/komponenta	AOAC metoda	Princip določanja
Skupna prehranska vlaknina	985.29	encimsko-gravimetrična metoda
Skupna, netopna in topna prehranska vlaknina	991.43	encimsko-gravimetrična metoda
Netopna prehranska vlaknina	991.42	encimsko-gravimetrična metoda
Topna prehranska vlaknina	993.19	encimsko-gravimetrična metoda
Skupna prehranska vlaknina (kot uronska kislina in Klason lignin)	994.13	encimsko-kemijska metoda
Skupna prehranska vlaknina, vključno z rezistentnim škrobom in nizkomolekularnimi komponentami PV	2009.01	encimsko-gravimetrična metoda/HPLC
Skupna, netopna in topna prehranska vlaknina, vključno z rezistentnim škrobom in nizkomolekularnimi komponentami PV	2011.25	encimsko-gravimetrična metoda/HPLC
Rezistentni škrob (retrogradiran škrob)	2002.02	encimska metoda
Fruktani (inulin, fruktooligosaharidi, hidroliziran inulin, polifruktoze)	999.03	encimsko-kolorimetrična metoda
Fruktani (inulin, fruktooligosaharidi, hidroliziran inulin, polifruktoze)	997.08	encimska metoda/ionsko-izmenjalna kromatografija
Trans-galaktooligosaharidi	2001.02	anionsko-izmenjalna kromatografija
β -glukani (1-3, 1-4- β -D-glukani iz žit)	995.16	encimska metoda
Rezistentni maltodekstrini	2001.03	encimsko-gravimetrična metoda/HPLC
Polidekstroza	2000.11	anionsko-izmenjalna kromatografija

Metoda AOAC 991.43 je encimsko-gravimetrična metoda pri kateri s pomočjo encimov, termostabilne α -amilaze, proteaze in amiloglukozidaze, vzorec in vitro razgradimo, ostanek, prehransko vlaknino, pa gravimetrično določimo. Postopek nam omogoča določitev netopne in topne frakcije prehranske vlaknine ter del rezistentnega škroba, ne moremo pa določiti nizkomolekularnih komponent prehranske vlaknine (AOAC, 1995). Za metodo je pomembna encimska razgradnja škroba in beljakovin v analiziranem vzorcu. Delovanje α -amilaze v žitih je omejeno z velikostjo delcev. V delcih, večjih od 500 μm , je škrob lahko ujet v žitnem zrnu in α -amilaza ne prodre do škrobnega zrna, encimska aktivnost α -amilaze na delcih zrn, manjših od 250 μm , pa se približuje konstanti (Al-Rabadi in sod., 2009). De la Hera in sod. (2013) so ugotovili, da je hitrost encimske razgradnje škroba v riževem zrnu obratno sorazmerna velikosti delcev, vendar se ne

spreminja pri delcih manjših od 80 μm . Velikost in oblika škrobnih zrn je odločilen, vendar ne edini dejavnik hitrosti delovanja α -amilaze. Upoštevati je potrebno še kristalizacijo škroba in tip glikozidne vezi (Tester in sod., 2006). Na encimsko razgradnjo škroba pomembno vpliva tudi matriks živila, na katerega vpliva tudi tehnološka obdelava živila, kot je na primer kuhanje, ekstruzija ipd. ter interakcija škroba z lipidi in beljakovinami v živilu (Singh in sod., 2010). Lipidi v kombinaciji s škrobom tvorijo amorfnost strukturo, ki ima enako hidrolitsko kinetiko kot kristaliziran škrob, ki se počasneje hidrolizira. Podobno učinkujejo tudi beljakovine, ki tvorijo gosto strukturo mrežo okrog škroba in preprečujejo dostop encimom (Zhang in sod., 2015).

Velikost delcev pri mletju običajno določamo s siti, kar povzroči nastanek mlevskih frakcij, ki se med seboj

razlikujejo po vsebnosti prehranske vlaknine. V grobih frakcijah je vsebnost prehranske vlaknine večja, saj pri mletju žitnih zrn v grobe frakcije prehajajo zunanji deli zrna, medtem ko fine mlevske frakcije zajemajo predvsem notranjost žitnega zrna, ki je bolj bogata s škrobom (Frølich in Nyman, 1988; Steadman in sod., 2001; Tosi in sod., 2001).

Namen raziskave je bil preveriti vpliv frakcije mletja vzorca (velikosti delcev), ki jo pridobimo pri presejanju vzorca, in mešanja na določitev vsebnosti netopne in topne prehranske vlaknine v izbranih vzorcih žit za zajtrk z metodo AOAC 991.43.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Vzorci žit za zajtrk

V raziskavo smo vključili 3 vzorce žit za zajtrk, ekstrudirane pšenične otrobe in valjane ovsene kosmiče, oba izdelka sta dostopna na slovenskem tržišču, ter referenčni vzorec suhih žit za zajtrk (ERM-BD518, vzorec 0578). Vzorca ekstrudiranih pšeničnih otrobov in valjanih ovsenih kosmičev sta bila zmrznjena s tekočim dušikom in zmleta v mlinčku. Izjema je bil referenčni vzorec suhih žit, ki je bil že predhodno zmlet. Mletje vzorcev je trajalo 15 s. Iz celote zmletih vzorcev je bil odvzet reprezentativen del vzorca, ki je predstavljal standardno mletje (izvorni vzorec). Preostanek vzorca je bil ločen s pomočjo 250 μm sita. Frakcija, ki je prešla sito, je bila frakcija 1 (del vzorca, mletega 15 s, ki je vseboval delce, manjše ali enake 250 μm), ostanek pa je predstavljal grobo mleto frakcijo oziroma frakcijo 2 (samo delci, večji od 250 μm , nekateri večji od 500 μm). Velikosti delcev smo izbrali glede na priporočila v postopku določanja prehranske vlaknine. Vzorci so bili do analize zaprti v PVC vrečkah in shranjeni na -20 °C.

2.2 Metode

Vsebnost prehranske vlaknine v vzorcih žit za zajtrk smo določili v štirih ponovitvah z encimsko-gravimetrično metodo AOAC 991.43 (AOAC, 1995), ki smo jo v manjši meri modificirali za potrebe našega poskusa. Metoda AOAC 991.43 je encimsko gravimetrična metoda, pri kateri škrob in beljakovine v razmaščenem vzorcu razgradimo z encimi α -amilazo, proteazo in amiloglukozidazo. Ostanek korigiramo na vsebnost pepela in beljakovin ter gravimetrično določimo topno prehransko vlaknino (TPV) in netopno prehransko vlaknino (NPV). Skupno prehransko vlaknino (SPV) izračunamo kot vsoto TPV in NPV. Namesto v 400 ml erlenmajericah smo encimsko razgradnjo izvedli v 50 ml centrifugirkah. Glede na

navodila za določanje prehranske vlaknine smo spreminjali način mešanja. Določanje prehranske vlaknine po metodi AOAC 991.43 predvideva encimsko hidrolizo v erlenmajericah, inkubiranih v stresalni kopeli, kjer valovanje pufru nenehno suspendira vzorec. Vzorce žit različnih mlevskih frakcij smo mešali na dva načina. Za simulacijo slabega mešanja (pokončno mešanje) smo pri inkubaciji vzorcev z α -amilazo vzorce premešali vsakih 10 min, v inkubaciji s proteazo in amiloglukozidazo, ki smo jo izvajali v stresalni kopeli, pa so bile centrifugirke postavljene pokončno, tako da valovanje vzorca ni doseglo dna. V simulaciji dobrega mešanja (ležeče mešanje) smo med inkubacijo z α -amilazo vzorce mešali vsakih 5 min, ob delovanju proteaze in amiloglukozidaze pa so bili v stresalno kopel položeni ležeče in vzdolžno z stresanjem, da je valovanje nenehno suspendiralo vzorec. Poleg vzorcev smo analizirali tudi slepi vzorec (vpliv dodanih reagentov in encimov).

2.3 Statistična obdelava rezultatov

Rezultate smo obdelali s pomočjo statističnega programa R. Rezultati določanja prehranske vlaknine v pšeničnih otrobih in referenčnem vzorcu so bili primerni za ANOVA analizo z definiranimi kontrasti med različnimi obravnavami, saj so bili parametrično razporejeni in so ustrezali kriteriju homogenih varianc. V primeru vzorca ovsenih kosmičev, kjer rezultati niso ustrezali standardni ANOVA analizi, ki predpostavlja homogenost varianc, smo izvedli prilagojeno ANOVA analizo, ki ne predpostavlja homogenih varianc. Nadalje smo analizirali tudi morebitne interakcije med vplivom mletja in mešanja. Interakcija med mletjem in mešanjem pomeni, da sprememba enega faktorja vpliva na drugi faktor, kar pomeni, da v analizi vpliva obeh faktorjev na odvisno spremenljivko, govorimo o sovplivu.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

V okviru študije smo želeli preveriti, ali frakcioniranje vzorca ter mešanje vplivata na določitev prehranske vlaknine po metodi AOAC 991.43. V preglednici 2 so predstavljeni rezultati vsebnosti NPV, TPV in SPV v

treh vzorcih žit za zajtrk ter njihovih frakcijah mletja. Ko govorimo o vplivu frakcije mletja so v primerjavo vključeni izvorni vzorec in obe frakciji.

Preglednica 2: Vsebnost prehranske vlaknine (povprečna vrednost \pm standardni odklon, $n = 4$) v vzorcih različnih frakcij mletja in z različnim načinom mešanja

Table 2: Dietary fibre content (mean value \pm standard deviation, $n = 4$) in samples of different milling fractions and different mixing methods

Vzorec	Frakcija mletja	Mešanje	NPV (g 100 g ⁻¹)	TPV (g 100 g ⁻¹)	SPV (g 100 g ⁻¹)
Pšenični otrobi	izvorni vzorec	ležeče	20,15 \pm 0,83 ^b	/	20,15 \pm 0,83 ^b
	1		18,25 \pm 0,51 ^a	/	18,25 \pm 0,51 ^a
	2		21,57 \pm 1,06 ^b	/	21,57 \pm 1,06 ^b
	izvorni vzorec	pokončno	26,40 \pm 0,30 ^c	/	26,40 \pm 0,30 ^c
	1		18,16 \pm 0,53 ^a	/	18,16 \pm 0,53 ^a
	2		20,54 \pm 0,37 ^b	/	20,54 \pm 0,37 ^b
Ovseni kosmiči	izvorni vzorec	ležeče	5,34 \pm 0,22 ^b	3,33 \pm 0,13 ^{bc}	8,67 \pm 0,22 ^b
	1		1,77 \pm 0,31 ^a	2,54 \pm 0,42 ^{ab}	4,32 \pm 0,18 ^a
	2		4,86 \pm 0,70 ^b	4,27 \pm 0,18 ^c	8,06 \pm 2,65 ^b
	izvorni vzorec	pokončno	4,81 \pm 0,98 ^b	3,97 \pm 0,26 ^c	8,78 \pm 0,77 ^b
	1		1,99 \pm 0,22 ^a	2,20 \pm 0,68 ^a	3,64 \pm 1,16 ^a
	2		6,26 \pm 1,05 ^b	4,00 \pm 0,26 ^b	10,26 \pm 1,07 ^b
Referenčni vzorec	izvorni vzorec	ležeče	25,98 \pm 0,56 ^{ab}	3,70 \pm 0,19 ^b	29,68 \pm 0,41 ^a
	1		25,41 \pm 0,68 ^a	5,53 \pm 0,39 ^c	30,94 \pm 0,64 ^a
	2		26,78 \pm 0,12 ^{abc}	3,70 \pm 0,39 ^b	30,48 \pm 0,49 ^a
	izvorni vzorec	pokončno	25,6 \pm 0,74 ^a	3,67 \pm 0,08 ^b	29,27 \pm 0,75 ^a
	1		27,63 \pm 1,3 ^{bc}	2,70 \pm 0,44 ^a	30,34 \pm 1,35 ^a
	2		28,13 \pm 0,58 ^c	2,70 \pm 0,12 ^a	30,84 \pm 0,60 ^a

povprečne vrednosti z isto črko v stolpcu, znotraj vzorca se ne razlikujejo ($p \leq 0,05$); /: pod mejo zanesljivosti

NPV: netopna prehranska vlaknina; TPV: topna prehranska vlaknina; SPV: skupna prehranska vlaknina

izvorni vzorec: standardno mletje; 1: ≤ 250 μm frakcija; 2: grobo mleta frakcija

3.1 Netopna prehranska vlaknina

Vsebnosti NPV v ekstrudiranih pšeničnih otrobih se med seboj razlikujejo, kot je razvidno iz preglednice 2. Na določeno vrednost NPV je pomembno vplivalo mešanje ($p < 0,001$), kar je najbolj opazno pri izvornem vzorcu, kjer je pri simulaciji dobrega mešanja (ležeče mešanje) določena vsebnost NPV 20,15 \pm 0,83 g 100 g⁻¹, pri slabem mešanju (pokončno mešanje) pa je določena vsebnost NPV 31 % večja in znaša 26,40 \pm 0,30 g 100 g⁻¹. Na določitev prehranske vlaknine vpliva tudi frakcija mletja vzorca ($p < 0,001$) in kombinacija obeh dejavnikov skupaj ($p < 0,001$). Rezultati pri standardnem mletju in pri grobi frakciji mletja se glede na mešanje značilno razlikujejo ($p < 0,001$ in $p = 0,040$). Vrednosti se pomembno razlikujejo tudi če primerjamo samo frakcije mletja, brez mešanja ($p < 0,001$).

Vsebnost NPV v vzorcih ovsenih kosmičev, ki smo jih različno mešali, se statistično značilno razlikuje med ≤ 250 μm frakcijo mletja in ostalimi frakcijami mletja (Preglednica 2). Določena vsebnost prehranske vlaknine v frakciji 1 (≤ 250 μm) je 1,77 \pm 0,31 g 100 g⁻¹ pri dobrem mešanju in 1,99 \pm 0,22 g 100 g⁻¹ pri slabem mešanju, med seboj se ne razlikujeta značilno. Majhne vrednosti določene NPV so posledica izgube PV zaradi frakcioniranja vzorca. Za izvorni vzorec in frakcijo 2 pa določena vsebnost NPV variira med 4,81 \pm 0,98 g

100 g⁻¹ in 6,26 \pm 1,05 g 100 g⁻¹. Značilnih razlik glede na mešanje ni ($p = 0,110$), prav tako ni značilne interakcije med mešanjem in frakcijo mletja.

Rezultati vsebnosti NPV v referenčnem vzorcu suhih žit za zajtrk se razlikujejo glede na različno obravnavanje. Značilen vpliv imata mešanje ($p = 0,003$) in Frakcija mletja ($p = 0,001$). Med frakcijo mletja in mešanjem je tudi značilna interakcija ($p = 0,011$). Razlik med izvornim vzorcem in frakcijo 1 ni.

3.2 Topna prehranska vlaknina

Vsebnost TPV je bila pri ekstrudiranih pšeničnih otrobih pod pragom zanesljive določitve. Določena vsebnost TPV v valjanih ovsenih kosmičih se značilno razlikuje glede na frakcijo mletja ($p < 0,001$). Določene vrednosti prehranske vlaknine za frakcijo 1 dosežejo 2,54 \pm 0,42 g 100 g⁻¹ in 2,20 \pm 0,68 g 100 g⁻¹. V izvornem vzorcu in frakciji 2 je bila določena vsebnost TPV med 3,33 \pm 0,13 g 100 g⁻¹ in 4,27 \pm 0,18 g 100 g⁻¹. Značilna je interakcija med mešanjem in frakcijo mletja ($p = 0,034$). Statistično pomembna razlika v določenih vsebnostih TPV se pokaže pri standardno mletem vzorcu, glede na način mešanja. Mešanje ne povzroči pomembnih razlik pri drugih frakcijah mletja.

Vsebnost TPV, določena v referenčnih vzorcih suhih žit, se glede na različno obravnavo vzorca med seboj

značilno razlikuje (preglednica 2). Razlike se ne pojavijo pri analizi izvirnega, standardno mletega vzorca, glede na mešanje. Na razlike vpliva mešanje ($p < 0,001$) in frakcija mletja ($p < 0,001$). Značilna je tudi interakcija med mešanjem in frakcijo mletja ($p < 0,001$).

3.3 Skupna prehranska vlaknina

Izračunana vsebnost SPV v valjanih ovsenih kosmičih se razlikuje glede na obravnavanje ($p < 0,001$). Vsebnost SPV v frakciji velikosti $\leq 250 \mu\text{m}$ (frakcija 1) je značilno manjša v primerjavi z vsebnostjo SPV v izvornem vzorcu in frakciji 2. Na razlike v vsebnostih SPV značilno vpliva frakcija mletja ($p < 0,001$), mešanje pa nima vpliva. Interakcije med mešanjem in mlevsko frakcijo ni.

Pri vsebnostih SPV v referenčnih vzorcih suhih žit se kaže značilen vpliv obravnave na rezultat ($p = 0,036$). Razlike v rezultatih so posledica mlevske frakcije ($p = 0,005$). Interakcije med mlevsko frakcijo in mešanjem ni. Samo mešanje vzorca med encimsko razgradnjo ne vpliva na določeno vsebnost SPV.

Povzamemo lahko, da na določanje prehranske vlaknine v različnih žitih za zajtrk vpliva frakcija mletja, to je velikost delcev v vzorcu. Ta pojav je bil opažen že v raziskavi, ki jo je izvedel Ehle (1984), kjer so se pokazale razlike v vsebnosti surove vlaknine, glede na velikost delcev vzorca. V vzorcih z večjimi delci je bila vsebnost surove vlaknine večja. V naši raziskavi so razlike v določeni vsebnosti prehranske vlaknine še posebej izrazite v primeru valjanih ovsenih kosmičev. Valjani ovseni kosmiči, ki so predstavljali naš vzorec, so blanširana in valjana zrna ovsa. Z mletjem in sejanjem skozi sita za pridobivanje mlevske frakcije, smo posnemali proces mletja. Pri referenčnem vzorcu lahko opazimo večjo vsebnost TPV, določene v frakciji 1, v kombinaciji s simulacijo dobrega mešanja. Pojav lahko pripišemo spremembi topnosti prehranske vlaknine (pretvorba dela NPV v TPV), ki je posledica delovanja fizične sile, ki mehansko poškoduje dolgotrajne komponente netopne prehranske vlaknine (Gualberto in sod., 1997). Različno vsebnost prehranske vlaknine v ajdovem zrnu ter v mlevskih izdelkih (moka, zdrob, otrobi...), glede na frakcijo mletja ter glede na izvorno surovino, so določili tudi Steadman in sod. (2001). Otrobi so vsebovali največ prehranske vlaknine, medtem ko jo je bela moka vsebovala najmanj. Tosi in sod. (2001) so proučevali vpliv frakcij mletja vzorca na vsebnost prehranske vlaknine v amarantu in ugotovili,

da večji kot so bili delci, večja je bila določena vsebnost prehranske vlaknine (Tosi in sod., 2001). Škrabanja in sod. (2004) pa so proučevali hranilno vrednost mlevskih frakcij ajde in v primeru prehranske vlaknine ugotovili, da je delež topne prehranske vlaknine v skupni prehranski vlaknini večji v mokah, kot v zdrobu in otrobih. Razlike v določeni vsebnosti prehranske vlaknine se kažejo tudi med sortami istega žita ter med moko in ekstrudati (Djurle in sod., 2016). Navedene študije so uporabljale primerljive metode, saj imajo vse vključeno encimsko razgradnjo vzorcev. Poleg vpliva frakcij je potrebno upoštevati tudi hitrost hidrolize škroba, saj se večji delci škroba hidrolizirajo počasneje, zato je možno, da se v času inkubacije z encimom α -amilaza ne razgradijo in ga lahko določimo kot prehransko vlaknino. Upoštevati pa je potrebno tudi, da zaradi večjega razmerja volumen/površina encimi ne morejo delovati na škrobna zrna, ali pa delujejo le delno (Mahasukhonthachat in sod., 2010). Večji vpliv ima verjetno nedostopnost škrobnih zrn za encime, saj so škrobna zrna načeloma majhna in dosežejo velikost do okrog $100 \mu\text{m}$ (Dhital in sod., 2010). Na določitev vsebnosti prehranske vlaknine lahko vpliva tudi različna encimska aktivnost (McCleary, 2001), zato je, za primerjavo vzorcev med seboj, priporočeno uporabljati enak encimski kit ali pa dodatno meriti encimsko aktivnost uporabljenih encimov.

Analitika vsebnosti prehranske vlaknine v živilih je potrebna zaradi njene vloge v številnih fizioloških procesih in pri zmanjševanju tveganja za razvoj bolezni. V zadnjem času je prehranska vlaknina pridobila še dodaten pomen, povezan z njeno uporabo kot funkcionalne in tehnološko pomembne sestavine. Natančna analitika vsebnosti prehranske vlaknine je pomembna tudi za pravilno označevanje živil ter za presojanje živil z namenom možnosti uporabe dveh prehranskih trditvev na označbi živila, saj je glede na vsebnost prehranske vlaknine možno pridobiti 2 trditvi in sicer: i.) trditvev *vir prehranske vlaknine*, kadar izdelek vsebuje vsaj 3 g prehranske vlaknine na 100 g živila ali 1,5 g prehranske vlaknine na 100 kcal in ii.) trditvev *velika vsebnost prehranske vlaknine*, ki jo lahko pridobi živilo, ki vsebuje vsaj 6 g prehranske vlaknine na 100 g ali 3 g prehranske vlaknine na 100 kcal (Uredba 1924/2006). Morebitne zdravstvene trditve pa ne veljajo za prehransko vlaknino na splošno, ampak se morajo nanašati na točno določeno komponento oz. vrsto prehranske vlaknine, za katero je dokazan fiziološki učinek (Salobir in sod., 2015; Stephen in sod., 2017).

4 SKLEPI

V raziskavi smo ugotovili, da frakcioniranje vzorca in način mešanja vplivata na določitev vsebnosti prehranske vlaknine v vzorcih žit za zajtrk. Posebej velik vpliv frakcioniranja vzorca se kaže na nepredelanih ali malo predelanih žitih, kjer z mletjem in presejanjem ločimo različne dele zrnja in s tem vplivamo na vsebnost prehranske vlaknine. Mešanje preprečuje posedanje vzorca in s tem nastanek mehanske prepreke za delovanje encimov. Zaključimo lahko, da je priporočeno vzorce mleti na velikost med

200 µm in 500 µm, kar je zgornja meja navedena v protokolu, ter pri tem vzorca ne frakcionirati skozi sita. V primeru, da steklovina ne omogoča dobrega valovanja vzorca v pufru z encimi, je potrebno prilagoditi inkubacijo, da se vzorec lahko meša. Metoda za določanje prehranske vlaknine AOAC 991.43 je robustna metoda, ki daje, znotraj svojih analitskih okvirov, natančne in ponovljive rezultate, vendar mora biti vzorec ustrezno pripravljen.

5 VIRI

- Al-Rabadi, G. J. S., Gilbert, R. G., Gidley, M. J. (2009). Effect of particle size on kinetics of starch digestion in milled barley and sorghum grains by porcine *alpha*-amylase. *Journal of Cereal Science*, 50(2), 198-204. doi:10.1016/j.jcs.2009.05.001
- AOAC (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington: DC. Association of Official Analytical Chemists.
- CAC (2017). Codex Alimentarius Commission. *Guidelines on nutrition labeling CAC/GL 2–1985 as last amended 2017*. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Secretariat of the Codex Alimentarius Commission. Rome, FAO: 10 str. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCAC%2BGL%2B2-1985%252FCXG_002e.pdf
- Dahl, W. J., Stewart, M. L. (2015). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health implications of dietary fiber. *Journal of Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(11), 1861-1870. doi:10.1016/j.jand.2015.09.003
- Dai, F. J., Chau, C. F. (2017). Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 37-42. doi:10.1016/j.jfda.2016.09.006
- de la Hera, E., Gomez, M., Rosell, C. M. (2013). Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 421-427. doi:10.1016/j.carbpol.2013.06.002
- DeVries, J.W. (2010). Validating official methodology commensurate with dietary fibre research and definitions. In: J. W. van der Kamp, J. Jones, B. McCleary & D. Topping (Eds.), *Dietary fibre: new frontiers for food and health* (pp. 29-49). Wageningen: Wageningen Academic Publishers. doi:10.3920/978-90-8686-692-2
- Dhital, S., Shrestha, A. K., Gidley, M. J. (2010). Relationship between granule size and in vitro digestibility of maize and potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 480-488. doi:10.1016/j.carbpol.2010.05.018
- Djurle, S., Andersson, A. A. M., Andersson, R. (2016). Milling and extrusion of six barley varieties, effects on dietary fibre and starch content and composition. *Journal of Cereal Science*, 72, 146-152. doi:10.1016/j.jcs.2016.09.017
- EFSA (2010). Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. European Food Safety Authority, *EFSA Journal*, 8(3), 1-77. doi:10.2903/j.efsa.2010.1462
- EFSA (2017). Dietary reference values for nutrients: Summary report. European Food Safety Authority: 92 str. doi:10.2903/sp.efsa.2017.e15121
- Ehle, F. R. (1984). Influence of particle size on determination of fibrous feed components. *Journal of Dairy Science*, 67(7), 1482-1488. doi:10.3168/jds.S0022-0302(84)81465-4
- Fernstrand, A. M., Burya, D., Garssen, J., Verster, J. C. (2017). Dietary intake of fibers: differential effects in men and women on perceived general health and immune functioning. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1-7. doi:10.1080/16546628.2017.1297053
- Frølich, W., Nyman, M. (1988). Minerals, phytate and dietary fibre in different fractions of oat-grain. *Journal of Cereal Science*, 7(1), 73-82. doi:10.1016/S0733-5210(88)80061-4
- Fuller, S., Beck, E., Salman, H., Tapsell, L. (2016). New horizons for the study of dietary fibre and health: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(1), 1-12. doi:10.1007/s11130-016-0529-6

- Golob, T., Bertoncelj, J., Korošec, M. (2012). Pomen prehranske vlaknine v prehrani človeka. *Acta Agriculturae Slovenica*, 99(2), 201-211.
- Gualberto, D. G., Bergman, C. J., Kazemzadeh, M., Weber, C.W. (1997). Effect of extrusion processing on the soluble and insoluble fiber and phytic acid contents of cereal brans. *Plant Foods for Human Nutrition*, 51(3), 187-198. doi:10.1023/A:1007941032726
- Kendall, C. W. C., Esfahani, A., Jenkins D. J. A. (2010). The link between dietary fibre and human health. *Food Hydrocolloids*, 24(1): 42-48. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.08.002
- Li, Y. O., Komarek, A. R. (2017). Dietary fibre basics: Health, nutrition, analysis, and applications. *Food Quality and Safety*, 1, 47-59. doi:10.1093/fqs/fyx007
- Mahasukhonthachai, K., Sopade, P. A., Gidley, M. J. (2010). Kinetics of starch digestion in sorghum as affected by particle size. *Journal of Food Engineering*, 96(1): 18-28. doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.06.051
- McCleary, B. V. (2001). Measurement of dietary fibre components: the importance of enzyme purity, activity and specificity. In: B. V. McCleary & L. Prosky (Eds.), *Advanced dietary fibre technology* (pp. 89-106). Oxford: Blackwell Science.
- McCleary, B. V., Sloane, N., Draga, A., Lazewska, I. (2013). Measurement of total dietary fiber using AOAC method 2009.01 (AACC International approved method 32-45.01): Evaluation and updates. *Cereal Chemistry*, 90(4), 396-414. doi:10.1094/CCHEM-10-12-0135-FI
- Monro, J. A. (2015). Dietary fibre. In: L. M. L. Nollet & F. Toldrá (Eds.), *Handbook of food analysis, Third edition* (pp. 755-767). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Perry, J. R., Ying, W. (2016). A review of physiological effects of soluble and insoluble dietary fibers. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6(2), 1-6. doi:10.4172/2155-9600.1000476
- Referenčne vrednosti za energijski vnos ter vnos hranil: tabelarična priporočila za otroke (od 1. leta starosti naprej), mladostnike, odrasle, starejše, nosečnice ter doječe matere. 2016. Ljubljana, Nacionalni inštitut za javno zdravje: 8 str. http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/javno_zdravje_2015/foto_DJZ/prehrana/2016_referencne_vrednosti_za_energijski_vnos_ter_vno_s_hranil_17022016.pdf
- Salobir, J., Levart, A., Korošec, M. (2015). Prehranske in zdravstvene trditve v primeru maščob in prehranske vlaknine. V: M. Korošec, T. Polak & L. Demšar (ur.). *Hrana, prehrana in mediji*. 28. Bitenčevi živilski dnevi. (pp. 81-97). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo.
- Singh, J., Dartois, A., Kaur, L. (2010). Starch digestibility in food matrix: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(4), 168-180. doi:10.1016/j.tifs.2009.12.001
- Steadman, K. J., Burgoon, M. S., Lewis, B. A. Edwardson, S. E., Obendorf, R. L. (2001). Buckwheat seed milling fractions: description, macronutrient composition and dietary fibre. *Journal of Cereal Science*, 33(3), 271-278. doi:10.1006/jcrs.2001.0366
- Stephen, A. M., Champ, M. M. J., Cloran, S. J., Fleith, M., van Lieshout, L., Mejborn, H., Burley, V. J. (2017). Dietary fibre in Europe: current state of knowledge on definitions, sources, recommendations, intakes and relationships to health. *Nutrition Research Reviews*, 30(2), 149-190. doi:10.1017/S095442241700004X
- Škrabanja, V., Kreft, I., Golob, T., Modic, M., Ikeda, S., Ikeda, K., Kreft, S., Bonafaccia, G., Knapp, M., Košmelj, K. (2004). Nutrient content in buckwheat milling fractions. *Cereal Chemistry*, 81(2), 172-176. doi:10.1094/CCHEM.2004.81.2.172
- Tarcea, M., Rus, V., Zita, F. (2017). Insight of dietary fibers consumption and obesity prevention. *Journal of Obesity & Eating Disorders*, 3(1), 1-3. doi:10.21767/2471-8203.100033
- Tester, R. F., Qi, X., Karkalas, J. (2006). Hydrolysis of native starches with amylases. *Animal Feed Science and Technology*, 130(1-2), 39-54. doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.01.016
- Tosi, E. A., Re, E., Lucero, H., Masciarelli, R. (2001). Dietary fiber obtained from amaranth (*Amaranthus Cruentus*) grain by differential milling. *Food Chemistry*, 73(4), 441-443. doi:10.1016/S0308-8146(00)00326-5
- Uredba (EU) št. 1169/2011 evropskega parlamenta in sveta z dne 25. oktobra 2011 o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom (2011). *Uradni list Evropske unije*, 304, 18-63 <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1169&from=sl>
- Uredba (EU) št. 1924/2006 evropskega parlamenta in sveta z dne 20. decembra 2006 o prehranskih in zdravstvenih trditvah na živilih (2006). *Uradni list Evropske unije*, 404: 9-25 <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:404:0009:0025:SL:PDF>

- Westenbrink, S., Brunt, K., van der Kamp, J. W. (2013). Dietary fibre: challenges in production and use of food composition data. *Food Chemistry*, 140(3), 562-567. doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.029
- Zhang, B., Dhital, S., Gidley, M. J. (2015). Densely packed matrices as rate determining features in starch hydrolysis. *Trends in Food Science & Technology*, 43(1), 18-31. doi:10.1016/j.tifs.2015.01.004
- Zielinski, G., Rozema, B. (2013). Review of fiber methods and applicability to fortified foods and supplements: choosing the correct method and interpreting results. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(13), 4359-4372. doi:10.1007/s00216-013-6711-x