

RD005 – INDELING KOOLHYDRATEN

In de voedermiddelen die aan landbouwhuisdieren worden vervoerd kunnen zeer veel verschillende koolhydraten voorkomen. In dit referentiedocument wordt een toelichting gegeven op de verschillende manieren waarop koolhydraten kunnen worden ingedeeld, en wordt tevens aangegeven waarin de verschillende indelingen van elkaar verschillen.

Geadviseerd wordt bij het bestuderen van dit document het schema aan het einde ervan regelmatig te raadplegen.

1. Methoden om koolhydraten te classificeren

De koolhydraatfractie in voedermiddelen bestaat uit een groot aantal chemisch verschillende verbindingen. Er zijn verschillende manieren om de diverse koolhydraten te classificeren: nutritioneel, chemisch of op grond van extraheerbaarheid.

a. Classificatie op basis van extraheerbaarheid:

Bij de analyse van suikers volgens de methode Luff Schoorl en de zetmeelanalyse volgens de genormaliseerde methode Ewers, wordt een voedermiddel geëxtraheerd met een 40 % ethanol oplossing.

- De 40 % oplosbare fractie bevat koolhydraten tot een ketenlengte van circa 10 glucose-eenheden. De fractie bestaat uit zowel enzymatisch als fermentatief afbreekbare mono-, di- en oligosacchariden en glucose-oligosacchariden. In deze fractie wordt het bruto suikergehalte veelal bepaald vlg. de gestandaardiseerde normmethode Luff Schoorl.
- Het residu (dat niet oplosbaar is in 40 % ethanol) bevat de structurele en niet structurele koolhydraten met een grotere ketenlengte. In deze fractie wordt het zetmeelgehalte (vlg. Ewers of met een enzymatische methode) bepaald.

Voor de genoemde analysemethoden wordt verder verwezen naar paragraaf 2.4 in de CVB Veevoedertabel.

b. Classificatie op basis van chemische criteria:

Bij het chemisch classificeren van de koolhydraatfractie zijn er verschillende criteria:

- *De mate van polymerisatie*, ofwel het aantal aan elkaar verbonden suikereenheden. Te onderscheiden zijn:
 - *laagmoleculaire suikers*, met een polymerisatiegraad van maximaal 10 eenheden, zoals: monosacchariden (glucose, fructose, galactose); disacchariden (saccharose, maltose, lactose, raffinose) en oligosacchariden (stachyose, verbascose, 'glucose-oligosacchariden' e.a.)
 - *polysacchariden*, met meer dan 10 eenheden, oplopend tot vele duizenden: zetmeel; opslag NSP als mannanen, fructanen; pectinen; wateroplosbare NSP (= Non Starch Polysaccharides = Niet Zetmeel Polysacchariden) als pentosanen en β -glucanen; niet-water-oplosbare celwandpolysacchariden als hemicellulose, cellulose en lignine.
- *De aard van de chemische bindingen tussen de suikereenheden:*
Zetmeel (een α -glucaan) bestaat uit twee typen polysacchariden: het lineaire amylose, waarin de glucose-eenheden via $\alpha(1-4)$ bindingen aan elkaar zijn gekoppeld en het vertakte amylopectine, waar de glucose-eenheden via $\alpha(1-4)$ én $\alpha(1-6)$ bindingen aan elkaar zijn verbonden.
In een niet-zetmeelkoolhydraat (NZK) als cellulose wordt de ruggengraat van het molecuul gevormd door glucose-eenheden, die via $\beta(1-4)$ bindingen aan elkaar zijn gekoppeld. Er kunnen ook andere bindingen voorkomen (zoals $\beta(1-3)$ in β -glucanen).

- *De identiteit van de aanwezige suikers:*
De meeste van de hierboven genoemde koolhydraten bestonden (met uitzondering van raffinose, stachyose en verbascose) uit één of meer hexose-eenheden, meestal glucose.
Er zijn echter ook koolhydraten waarin een deel van de aanwezige suikers niet glucose is, maar een ander hexose of een pentose (xylose, arabinose). Zo bestaat raffinose uit een glucose, een fructose en een galactosemolecuul; stachyose uit een raffinose en een galactosemolecuul, en verbascose uit een stachyose en een galactosemolecuul. Bij verschillende niet-zetmeelpolysacchariden (NSP) wordt de ruggengraat van het molecuul gevormd door bijvoorbeeld een polyxylaan (bestaande uit aan elkaar gekoppelde xylose-moleculen).

c. Nutritionele classificatie:

Bij een nutritionele classificatie wordt gekeken naar de wijze waarop een koolhydraat in een dier kan worden afgebroken tot de samenstellende suikereenheden en hoe absorptie uit het darmlumen plaatsvindt.

De monosacchariden glucose, fructose en galactose kunnen zonder verdere vertering worden geabsorbeerd. De disacchariden saccharose, maltose en lactose kunnen door dier-eigen enzymen worden verteerd tot hexosen die vervolgens kunnen worden geabsorbeerd. Daarbij moet worden opgemerkt dat de productie van het enzym lactase na spenen van zoogdieren sterk terugloopt, maar via de aanwezigheid van lactose in het voer wel vaak weer geïnduceerd kan worden. Bij vogels ontbreekt lactase echter.

Uit onderzoek waarbij xylose aan het voer werd toegevoegd, bleek dit wel te worden geabsorbeerd, maar bleek tevens dat het door het dier –tenminste grotendeels- onveranderd weer via de urine werd uitgescheiden. In normale rantsoenen komt xylose als zodanig nauwelijks voor.

Het zetmeel van veel bronnen kan door dier-eigen amylasen en (iso)maltasen worden verteerd tot glucose-eenheden. De hier genoemde koolhydraten zijn dus 'potentieel door dier-eigen enzymen verteerbaar'. Sommige zetmelen zijn echter niet of nauwelijks door dier-eigen enzymen afbreekbaar; men noemt ze 'resistant starch'. Een voorbeeld is natief aardappelzetmeel dat door varkensenzymen moeilijk kan worden afgebroken. Verder behoren hiertoe zetmelen die na ontsluiting via een technologische behandeling zodanig rekristalliseren dat de dier-eigen enzymen ze nauwelijks nog kunnen hydrolyseren; men spreekt dan over geretrogradeerd zetmeel.

Geretrogradeerd zetmeel en alle andere onder punt b. genoemde koolhydraten kunnen niet door dier-eigen enzymen worden verteerd; afbraak in het maagdarmkanaal kan dus uitsluitend plaatsvinden door micro-organismen (fermentatieve afbraak).

2. In de praktijk gehanteerde werkwijzen om koolhydraten in te delen

Wat betreft de indeling van koolhydraten zijn er in de loop van de tijd een aantal verschillende werkwijzen ontstaan, veelal gebaseerd op bepaalde analysemethoden. Onderstaand wordt op deze manier van indelen, alsook op de achterliggende analysemethoden ingegaan.

2.1 Bruto suiker

Bepaling van het gehalte aan **bruto suiker** in de 40 % ethanol oplosbare fractie. Dit gebeurt veelal volgens de methode Luff Schoorl. In de Veevoedertabel wordt dit gehalte aangeduid als SU1.

Bij deze bepalingsmethode wordt de 40 % ethanol oplosbare fractie aan een zwakzure hydrolyse (inversie) onderworpen; vervolgens wordt de hoeveelheid reducerende hydroxylgroepen bepaald (en meestal uitgedrukt als 'glucose-equivalenten').

Indertijd zijn de condities voor de zwakzure hydrolyse zodanig gekozen dat sacharose voor 100 % hydrolyseert. Voor andere suikers is dit echter zeer de vraag. Bij onderzoek is gebleken dat maltose onder de standaard analysecondities slechts gedeeltelijk wordt gehydrolyseerd (ca. 60 %). Aangenomen mag worden dat dit ook geldt voor andere di- en oligosacchariden in de 40 % ethanol oplosbare fractie (zowel de enzymatisch afbreekbare, zoals glucose-oligosacchariden, als de fermentatief afbreekbare) en dat de hydrolyse onvollediger zal zijn naarmate het aantal suikereenheden per molecuul toeneemt. Zo wordt verondersteld dat 'glucose-oligosacchariden' niet/nauwelijks wordt bepaald met de klassieke Luff Schoorl methode.

Binnen de bruto suikerfractie is in een aantal monsters van een aantal voedermiddelen via HPLC bepaald wat de fractie aan 'enzymatisch verteerbare suikers' (= 'SUIe/SUI') is. Deze fractie bestaat uit **glucose, fructose, galactose, saccharose, maltose en lactose**. De werkwijze in de Veevoedertabel veronderstelt dat het aandeel SUIe in het totale SUI gehalte per grondstof constant is, hetgeen wellicht niet het geval is. Het gehalte SUIe in een voedermiddel wordt berekend door SUI te vermenigvuldigen met de (op het productblad vermelde) factor 'SUIe/SUI'.

Het aandeel **fermentatief afbreekbare suikers** (bijv. raffinose, stachyose, verbasose) in de bruto suikerfractie wordt bepaald door daarvan de fractie enzymatisch verteerbare suikers af te trekken. In de Veevoedertabel wordt deze fractie aangeduid als SUIf = SUI – SUIe. Zoals hierboven aangegeven, wordt het gehalte aan fermentatief afbreekbare suikers waarschijnlijk onderschat. Niet gedetecteerde SUIf valt automatisch in de NSP-fractie, wat betekent dat een onvolledige detectie van de SUIf-fractie geen (grote) gevolgen heeft voor de energiewaardering van een grondstof.

Uit bovenstaande blijkt dat er m.b.t. de analyse van de – in 40 % ethanol – oplosbare suikerfractie nog de nodige onduidelijkheid is. Bij de meeste voedermiddelen gaat het om een relatief kleine fractie.

2.2 Glucose-oligosacchariden (GOS; afbraakproducten van een onvolledige enzymatische afbraak van zetmeel met 3 – ca. 10 glucose-eenheden)

GOS komt voor in voedermiddelen waar tijdens het voortbrengingsproces (al dan niet na doelbewuste toevoeging van amylases) het zetmeel uit het primaire product *gedeeltelijk* is afgebroken. Ze komen met name voor in bepaalde vochtrijke diervoeders.

Het gehalte aan GOS kan op twee manieren worden vastgesteld (voor details wordt verwezen naar de Tabel in paragraaf 2.4 van de CVB Veevoedertabel).

In de praktijk wordt ook wel gewerkt met ZETtot; dit de som van ZETam en GOS.

2.3 Zetmeel

Zetmeel kan worden bepaald volgens de methode Ewers, of via een enzymatische methode in het in 40 % ethanol niet-oplosbare residu.

Bij de normmethode Ewers (EC Regulation 152/2009; OSO 6493, 2000) wordt het monster onderworpen aan een zure hydrolyse, die qua zuursterkte, tijd en temperatuur nauwkeurig gestandaardiseerd is. De bij deze hydrolyse gevormde splitsingsproducten van zetmeel worden, omdat ze een optische rotatie veroorzaken, via een polarimeter gekwantificeerd. De gevonden uitkomst wordt gecorrigeerd voor de waarde die wordt gevonden voor de in 40% alcohol oplosbare koolhydraatfractie. Aangezien er ook andere, niet-enzymatisch afbreekbare en niet in 40% alcohol oplosbare koolhydraten zijn die bij de zure hydrolyse splitsingsproducten opleveren die een optische draaiing geven, kan deze –indirecte- bepalingmethode artificiële uitslagen geven. Het normvoorschrift geeft ook aan dat van bepaalde producten het zetmeelgehalte niet met deze methode mag worden geanalyseerd.

Bij de enzymatische bepaling van het zetmeelgehalte wordt het monster wel eerst geëxtraheerd met 40% alcohol. Vervolgens is de aan de enzymincubatie voorafgaande ontsluitingsstap van het zetmeel in de 40% onoplosbare fractie cruciaal. Algemeen wordt

aangenomen dat de recent ontwikkelde procedure, waarbij ontsloten wordt met DMSO, adequaat is. Bij het via een enzymatische methode kwantificeren van het aanwezige zetmeel is van belang dat het enzym zetmeel voor 100 % afbreekt tot glucose-eenheden, die vervolgens via een specifieke glucosebepaling worden gekwantificeerd. Dit kan door incubatie met het enzym amyloglucosidase. Hiervoor is een aantal jaren geleden een normmethode vastgesteld (ISO/DIS 15914, 2004). Bij gebruik van pancreatine (dat o.a. pancreasamylase bevat) blijven als splitsingsproducten ook maltose en isomaltose achter; tenzij deze met isomaltase verder worden afgebroken, wordt met de pancreatinemethode zetmeel niet kwantitatief bepaald^a.

De werkgroep Veevoedertabel heeft al in 2003 besloten voor die voederwaardesystemen waar zetmeel een relevante factor is, geheel over te stappen op het met amyloglucosidase bepaalde zetmeelgehalte. De redenen hiervoor waren:

- De methode Ewers is een indirecte methode. Bij een aantal producten geeft de methode een duidelijk artificiële uitslag (bijv. bietenpulp, citruspulp, lupinen, sojaschroot e.a.). Ook bij zetmeelrijke producten is er echter sprake van een geringe (bijv. granen en graanbijproducten) tot aanzienlijke overschatting (bijv. erwten)
- Er is een (ontwerp)normvoorschrift beschikbaar voor het met amyloglucosidase kwantitatief bepalen van zetmeel; deze methode heeft inmiddels breed draagvlak gekregen.
- Voor de voederwaardering is het van belang dat zoveel mogelijk gebruik wordt gemaakt van specifieke bepalingmethoden: de ZETam methode voldoet hieraan.

Voor de volgende voederwaardeparameters wordt gewerkt met ZETam (en dus niet (meer) met ZETew):

- a) zetmeelbestendigheid bij herkauwers,
- b) berekening van de structuurwaarde,
- c) berekening van de netto energiewaarde voor vleesvarkens (NE₂₀₁₅ en EW₂₀₁₅),
- d) in incidentele gevallen voor de berekening van de omzetbare energiewaarde voor volwassen pluimvee (OEpl), leghennen (OElh)
- e) de berekening van de omzetbare energie voor vleeskuikens (OEvlk) en
- f) de berekening van de benutting van de metaboliseerbare energie, aks onderdeel van de netto energieberekening voor paarden.

2.4 Niet-zetmeel polysacchariden (NSPh)

De koolhydraatfractie bestaat verder veelal grotendeels uit de '*niet-zetmeel celwandpolysacchariden*'.

Naast de niet-zetmeel celwandpolysacchariden komen in sommige planten, in plaats van zetmeel, andere *opslagpolysacchariden* voor; voorbeelden van dergelijke *opslag NSP* zijn mannanen, inuline e.d.

In het schema 'Indeling koolhydraten' wordt aangegeven dat beide typen NSP binnen de 'niet in 40 % ethanol oplosbare koolhydraatfractie' vallen. Gezien het feit dat bij het analyseren van deze NSP meestal met waterige extracten wordt gewerkt, en sommige NSP daarin gedeeltelijk oplossen, is dit feitelijk niet helemaal juist. Omdat het echter om polysacchariden gaat, wordt verondersteld dat de fout die hier wordt gemaakt verwaarloosbaar klein is.

- De fractie *niet-zetmeel celwandpolysacchariden* valt uiteen in een aantal categorieën: Pectinen (vaak voor een groot gedeelte wateroplosbaar), Wateroplosbare celwand

a De pancreatinemethode staat weliswaar dicht bij het dier dan de methode waarbij bacterieel amyloglucosidase wordt toegepast, maar als het doel is een kwantitatieve bepaling van het glucose-gehalte is dit niet relevant. Als men *in vitro* de zetmeelafbraak zoals deze in het dier plaatsvindt, wil imiteren ligt dat anders.

NSP (β -glucanen in gerst, arabinoxylanen in rogge en tarwe), Hemicellulose, Cellulose en Lignine.

- Voor de netto energiewaardering van voedermiddelen voor vleesvarkens dient de uitsluitend via fermentatie afbreekbare polysaccharidenfractie te worden berekend. Alle uitsluitend via fermentatie afbreekbare polysacchariden worden bijeengebracht onder de term 'NSPh' (= niet zetmeel polysacchariden)^a. Het gaat hier om een – als volgt – berekende fractie:

$$\text{NSPh (g/kg DS)} = 1000 - \text{RAS} - \text{RE} - \text{RVETH} - \text{ZETam} - \text{GOS} - \text{CF_DI*SUI} - 0,92*\text{MZ} - 0,5*(\text{AZZ} + \text{PRZ} + \text{BZ}) - \text{GLYCEROL}$$

(alle gehalten in g/kg DS)

Deze werkwijze heeft als voordeel dat er geen uitgebreide analyse behoeft plaats te vinden van een veelheid aan koolhydraten; nadeel is dat alle onnauwkeurigheden (o.a. fouten in de omrekening van N- naar RE-gehalte, waarbij standaard een factor 6,25 wordt aangehouden) cumuleren in de NSP-fractie.

Bij vochtrijke diervoeders worden de vluchtige componenten AZZ, MZ, PRZ, BZ en ALC in het verse product bepaald en in de droge stof (verkregen na droging) 'ingerekend'. In de droge stof is na de in de praktijk gangbare droogmethoden echter nog slechts een gedeelte van deze ingerekende hoeveelheid aanwezig, nl. het niet-vervluchtigde gedeelte. Op grond van literatuurgegevens zijn voor AZZ, MZ, PRZ, BZ en ALC de vervluchtigingspercentages ingeschat van resp. 50, 8, 50, 50, 50 en 100%. Bij de berekening van het NSPh-gehalte in de droge stof (zoals in de formule aangegeven en zoals gebruikelijk voor vochtrijke diervoeders) wordt daarom van de droge stof slechts de niet-vervluchtigde fractie van deze componenten afgetrokken. Voor mengvoedergrondstoffen, waarin geen substantiële gehalten aan glucose-oligosacchariden, organische zuren en/of alcohol voorkomen, kan voor de formule voor de berekening van het NSPh gehalte vereenvoudigd worden:

$$\text{NSPh (g/kg DS)} = 1000 - \text{RAS} - \text{RE} - \text{RVETH} - \text{ZETam} - \text{CF_DI*SUI}$$

(alle gehalten in g/kg DS)

of

$$\text{NSPh (g/kg)} = \text{DS} - \text{RAS} - \text{RE} - \text{RVETH} - \text{ZETam} - \text{CF_DI*SUI}$$

(alle gehalten in g/kg)

Opmerking: wanneer met de bruto suikerbepaling vlg. Luff Schoorl niet alle SUI wordt bepaald, zal het niet-gedetectede gedeelte van de SUI fractie rekentechnisch in de NSPh-fractie vallen.

2.5 Verschil tussen NZK en NSP

Er is een duidelijk, maar in de praktijk niet altijd onderkend verschil tussen *NZK* (= *niet-zetmeelkoolhydraten*) en *NSP* (= *non-starch polysacchariden, ofwel niet-zetmeel polysacchariden*). Tot de eerste behoren in feite alle laagmoleculaire koolhydraten. In formule: $\text{NZK} = \text{NSPh} + \text{SUI} + \text{GOS}$. Behalve dat de term NZK abusievelijk wordt

a Er wordt sinds de CVB Veevoedertabel 2016 gerekend met NSPh en niet langere met NSP, omdat in het in 2015 geïntroduceerde nieuwe netto energiesysteem voor vleesvarkens (NE_{2015} ; EW_{2015}) voor alle voederemiddelen gerekend wordt met (V)RVETH en niet meer met RVET.

gebruikt als synoniem voor de term NSP, gebeurt het ook dat men met NZK de fermentatief afbreekbare oligosacchariden (raffinose, stachyose, verbascose) wil aanduiden. Vanwege de onduidelijkheid van de term NZK wordt aanbevolen deze niet te gebruiken.

2.6 Celwandanalyse vlg. de methode Van Soest

Bij de *Van Soest analyse* worden drie fracties onderscheiden: *NDF* = fractie die niet oplost in neutraal detergens, *ADF* = fractie die niet oplost in zuur detergens (tegenwoordig bepaalt men vaak het gehalte *ND-ADF*, ofwel dat gedeelte van de *NDF*-fractie dat niet oplost in zuur detergens) en *ADL* = residu dat niet oplost in een sterk zuur.

De Van Soest analyses zijn oorspronkelijk ontwikkeld voor ruwvoerders. Hierin komen nauwelijks/geen pectinen en wateroplosbare celwand NSP (zoals araboxylanen en β -glucanen) voor; daarom wordt verondersteld dat deze fracties niet meer aanwezig zijn in de *NDF*-fractie zoals bepaald volgens Van Soest.

Op de oorspronkelijke Van Soest methode bestaan een aantal modificaties, o.a. voor zetmeelrijke grondstoffen waar men door enzymatische voorbehandeling de bij de *NDF*-bepaling storende hoge zetmeelgehalten reduceert.

Verder wordt tegenwoordig vaak, in plaats van een rechtstreekse bepaling van het *ADF* gehalte, het gehalte *ND-ADF* bepaald. Dit is dat gedeelte van de *NDF*-fractie dat niet oplost in zuur detergens.

Bij de Van Soest bepaling van *NDF* en *ADF* blijft het celwandgebonden eiwit aanwezig; deze fractie *NDIN*- of *ADIN*-fractie wordt dus in principe dubbel geteld (zowel bij de *RE*-bepaling als bij de celwandanalyse). Tenslotte is vermeldenswaard dat het N-gehalte in deze fracties bij ruwvoerders (met name vers gras) afhankelijk is van de methode van drogen van het monstermateriaal: bij drogen bij 70 °C is het celwandgebonden N-gehalte hoger dan bij vriesdrogen.

2.7 Ruwe celstof

De *ruwe celstofbepaling* is een nog altijd veel gebruikte, maar weinig specifieke methode ter bepaling van het gehalte aan celwandbestanddelen. Naast een niet-kwantitatieve recovery van lignine lost bij deze analyse ook een groot gedeelte van de hemicellulosefractie op. Het grootste gedeelte van de cellulose-fractie blijft echter bij deze analyse onopgelost. Ook in de ruwe celstof is nog N, dus celwand-gebonden eiwit, aanwezig.

In het schema op de volgende pagina wordt de indeling van de koolhydraatfractie volgens de verschillende benaderingen weergegeven.

Schema indeling koolhydraten

Koolhydraten										
In 40 % ethanol oplosbare koolhydraten (Onvolledige analyse met Luff Schoorl)					Niet in 40 % ethanol oplosbare koolhydraten					
Glu,Fru,Gal, Sac,Mal,Lac		Fermentat. afbr. suikers	Glucose- oligosacch. (GOS)		Zetmeel	Opslag NSP	Niet-zetmeel celwandpolysacchariden			
						Pectinen	Wateroplosb celwand NSP	Niet-wateroplosbare celwand NSP		
								Hemicel- lulose	Cellulose	Lignine
ZETtot		Glucose- oligosacch. (GOS)		Zetmeel (als ZETam)						
Fermentatief afbreek- bare koolhydraten		Fermentat. afbr. suikers	Resistant Starch		Opslag NSP	Pectinen	Wateroplosb celwand NSP	Niet-wateroplosbare celwand NSP		
NSP		Voor zover niet met Luff Schoorl gedetecteerd			Opslag NSP	Pectinen	Wateroplosb celwand NSP	Hemicel- lulose	Cellulose	Lignine
NZK = Niet-zetmeel Koolhydraten		Glu,Fru,Gal, Sac,Mal,Lac	Fermentat. afbr. suikers	Glucose- oligosacch. (GOS)	Opslag NSP	Pectinen	Wateroplosb celwand NSP	Hemicel- lulose	Cellulose	Lignine
NSP = Non-starch Polysacchariden					Opslag NSP	Pectinen	Wateroplosb celwand NSP	Hemicel- lulose	Cellulose	Lignine
NDF								Hemicel- lulose	Cellulose	Lignine
ND-ADF / ADF									Cellulose	Lignine
ADL										Lignine
Ruwe Celstof								deel Hemi- cellulose	vrijwel alle Cellulose	groot deel Lignine