

## VERSLAG

LEUVEN

### Resultaten smaaksessie in kader van GOT-kit: bepalen concentratieniveaus

#### 1 Inleiding

Het “Center for Gastrology” in Leuven is een onafhankelijk centrum dat een fundamentele verandering in de benadering van de welzijns- en gezondheidssector wil verwezenlijken door een geïntegreerde aanpak van voeding in de zorg te propageren, te implementeren en wereldwijd te promoten met als eerste aandachtspunt; niet ziektegerelateerde ondervoeding bij ouderen. Het “Center for Gastrology” (dhr. Edwig Goossens) wil een GOT-kit ontwikkelen waar het de bedoeling is:

- om voor een specifieke doelgroep (chef + kookteam) de intensiteit van de sensorische GOT gewaarwording/waarneming van een gerecht te indiceren t.o.v. een referentie
- maar ook om het kookteam o.l.v. de chef intrinsiek te motiveren a.d.h. van een basiskit.

Het is met andere woorden niet de bedoeling om met de GOT-kit een internationale smaakstandaard af te leveren, maar eerder een indicatiekit voor chefs in de zorg.

De Onderzoeksgroep voor Moleculaire Geurchemie werd gecontacteerd door het “Center for Gastrology” voor wetenschappelijke ondersteuning bij het bepalen van referentiecomponenten en concentratieniveaus voor gustatie (zuur, zoet, bitter, zout, umami), trigeminatie (pikant) en olfactie (vanille). Voor deze testen werd gebruikt gemaakt van een ISO-conform smaaklaboratorium met individuele smaakhokjes. Op 18 juli 2013 werd de Onderzoeksgroep voor Moleculaire Geurchemie bezocht door 18 chef-koks dewelke zich kandidaat stelden om smaaktesten uit te voeren. Voor de smaaktesten werden per attribuut telkens 5 verdunningen ad random gepresenteerd. 10 mL van deze verdunningen werden in gelabelde, witte plasticbekerkes aangeboden. Voor elk attribuut werden minstens 12 panelleden ingeschakeld om voldoende representatieve gemiddeldes te kunnen berekenen. Per reeks werd gevraagd om de stalen te ordenen van lage intensiteit naar hoge intensiteit (range-orde test). Daarna werd gevraagd om de intensiteit voor elke verdunning kwantitatief te begroten gebruikmakend van volgende schaalverdeling:

1. Geen geur/smaak, of niet herkenbaar
2. Zeer zwak, duidelijk herkenbaar
3. Zwak – medium
4. Medium
5. Medium – sterk
6. Sterk
7. Extreem sterk

De geselecteerde referentiecomponenten en aangeboden concentraties voor de verschillende GOT-attributen zijn samengevat in onderstaande tabel.

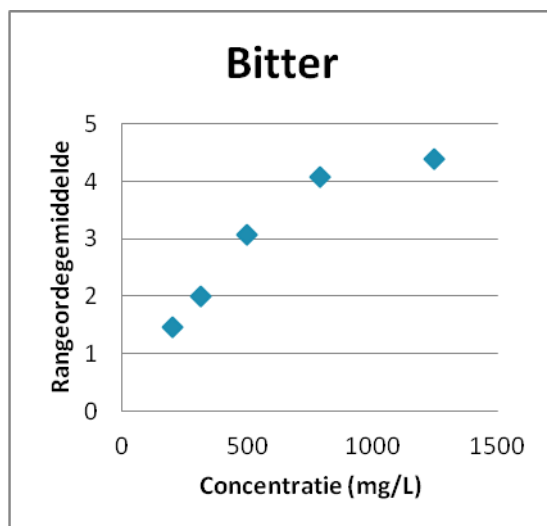
**Tabel 1. Overzicht van onderzochte smaakattributen, referentiecomponenten en aangeboden concentraties**

Attribuut	Referentie	Concentratie in (gedestilleerd) water				
		31,6	78,8	196,9	491,5	1227
Olfactie	Vanillin (µg/L water)	31,6	78,8	196,9	491,5	1227
Gustatie- zoet	Sucrose (mg/L,)	3000	4740	7489	11833	18696
Gustatie – bitter	Cafeïne (mg/L,)	200	316	499	789	1246
Gustatie – zuur	citric acid (mg/L,)	200	316	499	789	1246
Gustatie – umami	glutamate monosodium (mg/L,)	600	948	1498	2367	3739
Gustatie – zout	NaCl (mg/L,)	800	1264	1997	3155	4986
Trigeminatie - Pikant	Capsaïcine (mg/l)	0,019	0,048	0,12	0,3	0,75

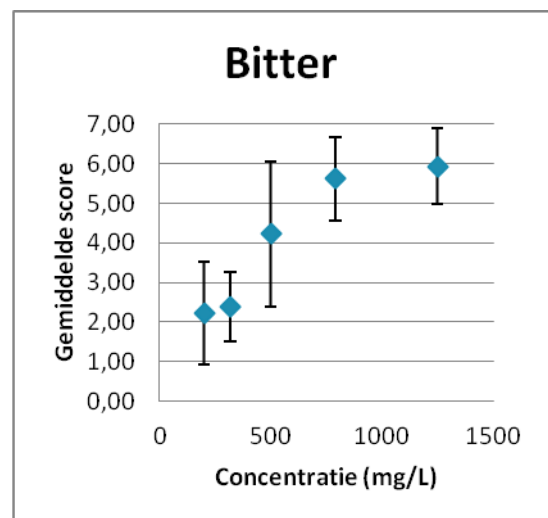
## 2 Resultaten en statistische dataverwerking 'BITTER'

### 2.1. Algemeen

In onderstaande figuren zijn de resultaten samengevat van de smaaktesten voor bitter.



**Figuur 1. Rangordegemiddelde ifv concentratie**



**Figuur 2: Gemiddelde score ifv concentratie**

Uit Figuur 1 blijkt dat de panelleden in staat waren om de aangeboden verdunning te ordenen van laag naar hoog. Toch dient opgemerkt te worden dat de laagste concentratie (200 mg/L) niet altijd als laagste intensiteit werd ervaren (rangordegemiddelde > 1), en de hoogste concentratie niet altijd als hoogste werd aangeduid (rangordegemiddelde < 5). Dit duidt erop dat er binnen het smaakpanel een bepaalde variatie in smaakgevoeligheid bestaat, wat te verwachten is gezien het hier niet gaat om een sterk getraind, expertenpanel.

Aangezien het "Center for Gastrology" specifiek vraagt naar het bepalen van concentraties dewelke als 'zwak', 'medium' en 'sterk' worden waargenomen door de doelgroep (koks uit zorgsector), is de informatie in Figuur 2 meer relevant. Figuur 2 toont gemiddelde intensiteitscores voor de verschillende aangeboden verdunningen. Zoals te verwachten op basis van Figuur 1 zit er een relatief grote spreiding op deze gemiddelde waarden. Toch kan geconcludeerd worden dat het panel de laagste verdunning gemiddeld als 'zeer zwak' (score 2) en de hoogste verdunning als 'sterk' (score 6)

inschatte. Met de juiste statistische tools moet het dus mogelijk zijn om binnen de aangeboden concentratierange keuzes te maken die kunnen toegepast worden voor de GOT-kit.

## 2.1. Statistische dataverwerking

### 2.1.1. ANOVA + post-hoc

Om na te gaan of het aanbieden van verschillende concentraties resulteert in minstens één afwijkende gemiddelde intensiteitswaarde (m.a.w. of concentratieverhoging resulteert in intensiteitsverhoging) werd een ANOVA uitgevoerd.

#### ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	p-value
Between Groups	156,923	4	39,231	25,123	,000
Within Groups	93,692	60	1,562		
Total	250,615	64			

Met een p-waarde  $\lll 0,05$  kan gesteld worden dat de concentratieverhoging 'BITTER' een significant effect heeft op de gemeten score. We kunnen weliswaar nog geen uitspraken doen in welke mate er verschillen bestaan tussen de verschillende aangeboden concentraties.

Om alle reeksen van experimenten onderling met elkaar te kunnen vergelijken, en zo na te gaan welke impact concentratieverhoging heeft op de score, kunnen post hoc test gebeuren (Tukey's HSD).

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: scorebitter

Tukey HSD

(I) concbitter	(J) concbitter	Mean Difference (I-J)	Std. Error	p-value	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
200,00	316,00	-,154	,490	,998	-1,53	1,22
	499,00	-2,000 <sup>*</sup>	,490	,001	-3,38	-,62
	789,00	-3,385 <sup>*</sup>	,490	,000	-4,76	-2,01
	1246,00	-3,692 <sup>*</sup>	,490	,000	-5,07	-2,31
316,00	200,00	,154	,490	,998	-1,22	1,53
	499,00	-1,846 <sup>*</sup>	,490	,003	-3,22	-,47
	789,00	-3,231 <sup>*</sup>	,490	,000	-4,61	-1,85
499,00	1246,00	-3,538 <sup>*</sup>	,490	,000	-4,92	-2,16
	200,00	2,000 <sup>*</sup>	,490	,001	,62	3,38
	316,00	1,846 <sup>*</sup>	,490	,003	,47	3,22

	789,00	-1,385 <sup>*</sup>	,490	,048	-2,76	-,01
	1246,00	-1,692 <sup>*</sup>	,490	,009	-3,07	-,31
	200,00	3,385 <sup>*</sup>	,490	,000	2,01	4,76
789,00	316,00	3,231 <sup>*</sup>	,490	,000	1,85	4,61
	499,00	1,385 <sup>*</sup>	,490	,048	,01	2,76
	1246,00	-,308	,490	,970	-1,69	1,07
	200,00	3,692 <sup>*</sup>	,490	,000	2,31	5,07
1246,00	316,00	3,538 <sup>*</sup>	,490	,000	2,16	4,92
	499,00	1,692 <sup>*</sup>	,490	,009	,31	3,07
	789,00	,308	,490	,970	-1,07	1,69

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

In bovenstaande tabel worden de gemiddelden van elke test met elkaar vergeleken. Rekening houdend met de standaardafwijking, wordt nagegaan of de gemiddelden al dan niet significant van elkaar verschillen. Twee gemiddelde scores zijn significant verschillend van elkaar indien p-waarde <0,05. Uit bovenstaande tabel kan bijvoorbeeld afgeleid worden dat er bijvoorbeeld geen significant verschil is tussen 200 vs. 316 mg/L of 789 µg/L vs. 1246 mg/L.

De resultaten van Tukey HSD post-hoc worden samengevat in onderstaande tabel:

#### Scorebitter

Tukey HSD<sup>a</sup>

concbitter	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
200,00	13	2,2308		
316,00	13	2,3846		
499,00	13		4,2308	
789,00	13			5,6154
1246,00	13			5,9231
Sig.		,998	1,000	,970

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13,000.

Bovenstaande tabel toont dat er 3 subsets kunnen worden gedefinieerd dewelke significant van elkaar verschillen. In dit specifiek geval komt elke subset overeen met een verschillende smaakintensiteit, nl. 'zwak', 'medium' en 'sterk'. Een finale keuze van concentratie kan gemaakt worden door binnen elke subset ofwel één effectief aangeboden, ofwel een gemiddelde waarde te kiezen.

### 2.1.2. Test normaliteit – Shapiro-Wilk

We gaan ervan uit dat sprake is van gelijke variantie tussen de verschillende smaaktesten (identieke omstandigheden, identieke waarnemers, etc.). In de veronderstelling van de laatste aanname, mag ANOVA in theorie pas uitgevoerd worden indien de experimentenreeks normaal verdeeld is. ANOVA is weliswaar vrij robuust, en in praktijk kan ANOVA in sommige gevallen ook toegepast wanneer niet

voldaan is aan de normaliteitsvoorwaarde. Desalniettemin werd normaalverdeling additioneel onderzocht.

**Tests of Normality**

	concbitter	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	p-value.
	200,00	,213	13	,111	,862	13	,041
	316,00	,363	13	,000	,794	13	,006
scorebitter	499,00	,165	13	,200 <sup>±</sup>	,905	13	,155
	789,00	,184	13	,200 <sup>±</sup>	,896	13	,116
	1246,00	,224	13	,072	,878	13	,066

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Statistische dataverwerking leert dat de resultaten van de smaaktesten voor bitter zelden normaal verdeeld zijn, met uitzondering van concentraties 499 mg/l en 789 mg/l. Wanneer meetresultaten niet normaal verdeeld zijn, kan als alternatieve strategie geopteerd worden om een niet-parametrische test uit te voeren.

### 2.1.3. Niet-parametrische test:

Een niet-parametrische test werd uitgevoerd ter verificatie van de voorgaande uitspraken (Kruskal-Wallis test + vergelijking twee gemiddelden via Mann-Whitney test). Ter illustratie werd zo'n niet-parametrische vergelijking uitgevoerd voor 200 vs. 316 mg/L én 200 vs. 499 mg/L.

**Ranks**

	concbitter	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	200,00	13	12,58	163,50
scorebitter	316,00	13	14,42	187,50
	Total	26		

Test Statistics<sup>a</sup>

	scorebitter		
Mann-Whitney U	72,500		
Wilcoxon W	163,500		
Z	-,647		
Asymp. Sig. (2-tailed)	,518		
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,545 <sup>b</sup>		
	Sig.	,528 <sup>c</sup>	
Monte Carlo Sig. (2-tailed)	Lower Bound	,515	
	99% Confidence Interval	Upper Bound	,541
	Sig.	,264 <sup>c</sup>	
Monte Carlo Sig. (1-tailed)	99% Confidence Interval	Lower Bound	,253

Upper Bound	,276
-------------	------

- a. Grouping Variable: concbitter
- b. Not corrected for ties.
- c. Based on 10000 sampled tables with starting seed 926214481.

⇒ *Conclusie: geen significant verschil tussen 200 mg/L en 316 mg/L (p-waarde > 0.05)*

Ranks				
	concbitter	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	200,00	13	9,42	122,50
scorebitter	499,00	13	17,58	228,50
	Total	26		

Test Statistics <sup>a</sup>				scorebitter
Mann-Whitney U				31,500
Wilcoxon W				122,500
Z				-2,760
Asymp. Sig. (2-tailed)				,006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]				,005 <sup>b</sup>
	Sig.			,005 <sup>c</sup>
Monte Carlo Sig. (2-tailed)	99% Confidence Interval	Lower Bound		,003
		Upper Bound		,007
	Sig.			,002 <sup>c</sup>
Monte Carlo Sig. (1-tailed)	99% Confidence Interval	Lower Bound		,001
		Upper Bound		,004

- a. Grouping Variable: concbitter
- b. Not corrected for ties.
- c. Based on 10000 sampled tables with starting seed 1314643744.

⇒ *Conclusie: significant verschil tussen 200 mg/L en 499 mg/L (p-waarde < 0.05)*

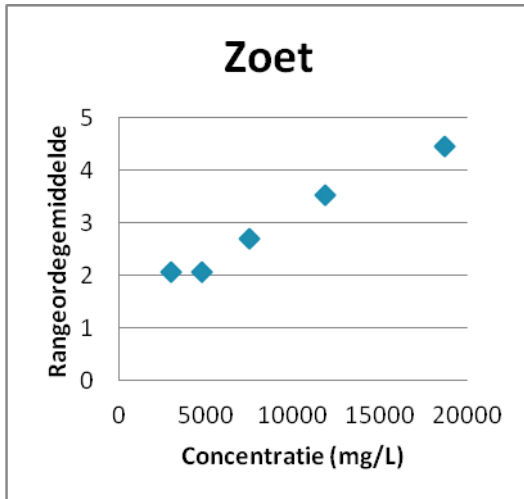
**CONCLUSIE 'BITTER':**

- Niet alle experimenten zijn normaal verdeeld
- ANOVA mag in theorie enkel toegepast worden indien normaal verdeeld, maar is relatief robuust. Er werd een niet-parametrische test uitgevoerd ter vergelijking. De conclusies op basis van niet-parametrische test zijn dezelfde als deze uitgevoerd met ANOVA!
- **Concentraties voor GOT:**

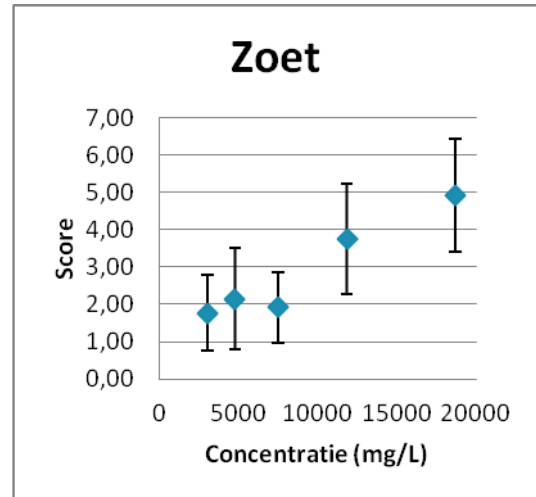
ZWAK = 200 – 316 mg/L  
 MEDIUM = 499 mg/L  
 STERK = 789 – 1246 mg/L

### 3 Resultaten en statistische dataverwerking 'ZOET'

Dezelfde methodiek als beschreven in hoofdstuk 2 werd gevolgd voor het smaakattribuut ZOET (sucrose-oplossing)



**Figuur 3. Rangeordegemiddelde ifv conc ZOET**



**Figuur 4: Gemiddelde score ifv conc ZOET**

Tukey HSD<sup>a</sup>

conczoot	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3000,00	13	1,7692	
7489,00	13	1,9231	
4740,00	13	2,1538	
11833,00	13		3,7692
18696,00	13		4,9231
Sig.		,939	,159

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13,000.

**CONCLUSIE:**

- De laagste 3 aangeboden concentraties zijn niet normaal verdeeld (ANOVA + post-hoc + niet-parametrische testen uitgevoerd)
- Boxplot toont dat er outliers zijn
- **Concentraties voor ZOET:**

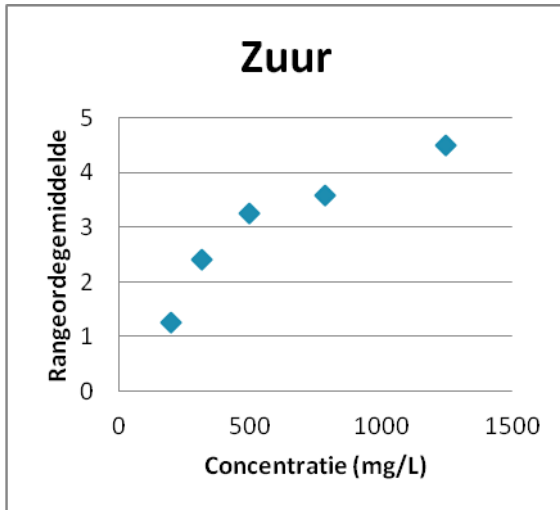
ZWAK = 3000 - 7489 mg/L

MEDIUM = 11833 mg/L

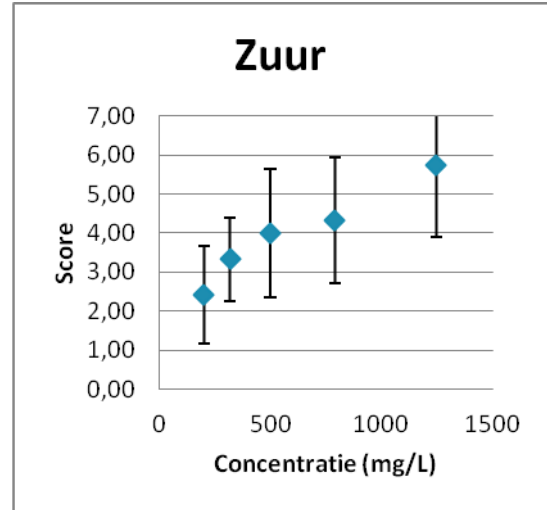
STERK = > 18 696 mg/L ... 0.2 log hoger?

#### 4 Resultaten en statistische dataverwerking 'ZUUR'

Dezelfde methodiek als beschreven in hoofdstuk 2 werd gevolgd voor het smaakattribuut ZUUR (citroenzuur-oplossing).



**Figuur 5. Rangeordegemiddelde ifv conc ZUUR**



**Figuur 6: Gemiddelde score ifv conc ZUUR**

Tukey HSD<sup>a</sup>

conczuur	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
200,00	12	2,4167		
316,00	12	3,3333	3,3333	
499,00	12	4,0000	4,0000	
789,00	12		4,3333	4,3333
1246,00	12			5,7500
Sig.		,093	,494	,164

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

#### CONCLUSIE:

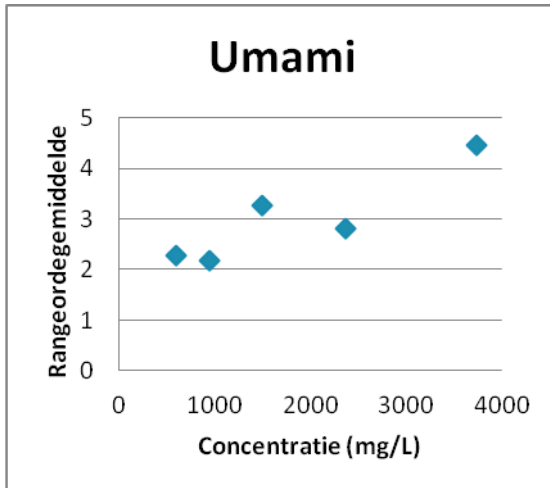
- 3 v.d. 5 aangeboden concentraties zijn niet normaal verdeeld
- Boxplot toont dat er outliers zijn
- **Concentraties voor GOT:**

ZWAK = 200 mg/L  
MEDIUM = 499 mg/L  
STERK = 1246 mg/L?

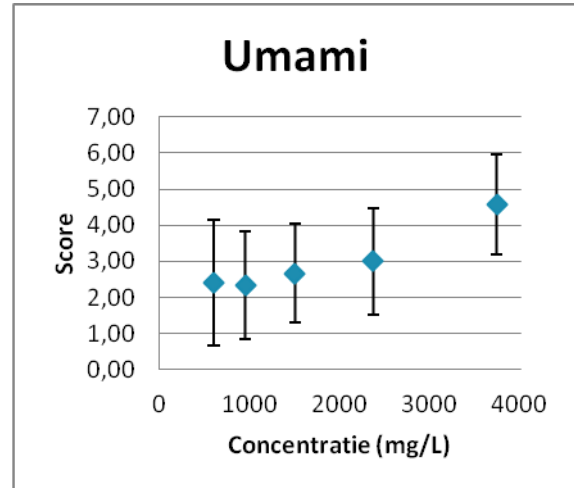


## 5 Resultaten en statistische dataverwerking ‘UMAMI’

Dezelfde methodiek als beschreven in hoofdstuk 2 werd gevolgd voor het smaakattribuut UMAMI (mononatriumglutamaat-oplossing).



Figuur 7. Rangeordegemiddelde ifv conc UMAMI



Figuur 8: Gemiddelde score ifv conc UMAMI

### Scoreumami

Tukey HSD<sup>a</sup>

concumami	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
948,00	12	2,3333	
600,00	12	2,4167	
1498,00	12	2,6667	
2367,00	12	3,0000	3,0000
3739,00	12		4,5833
Sig.		,810	,086

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

### CONCLUSIE:

- 4 v.d. 5 aangeboden concentraties zijn niet normaal verdeeld
- Boxplot toont dat er outliers zijn
- **Concentraties voor GOT:**

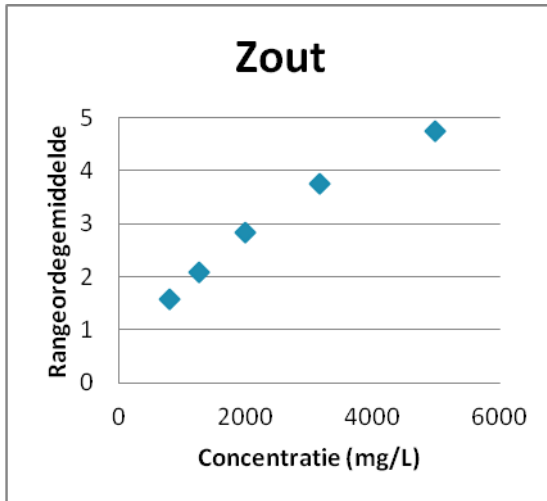
ZWAK = 600 - 2367 mg/L → 948 mg/L ?

MEDIUM = 3739 mg/L

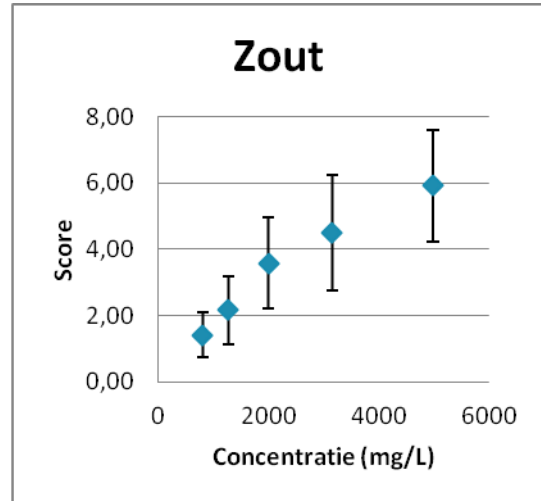
STERK = niet gemeten

## 6 Resultaten en statistische dataverwerking 'ZOUT'

Dezelfde methodiek als beschreven in hoofdstuk 2 werd gevolgd voor het smaakattribuut ZOUT (Natriumchloride-oplossing).



Figuur 9. Rangeordegemiddelde ifv conc ZOUT



Figuur 10: Gemiddelde score ifv conc ZOUT

Tukey HSD<sup>a</sup>

conczout	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
800,00	12	1,4167			
1264,00	12	2,1667	2,1667		
1997,00	12		3,5833	3,5833	
3155,00	12			4,5000	4,5000
4986,00	12				5,9167
Sig.		,660	,093	,471	,093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

### CONCLUSIE:

- 4 v.d. 5 aangeboden concentraties zijn niet normaal verdeeld
- **Concentraties voor GOT:**

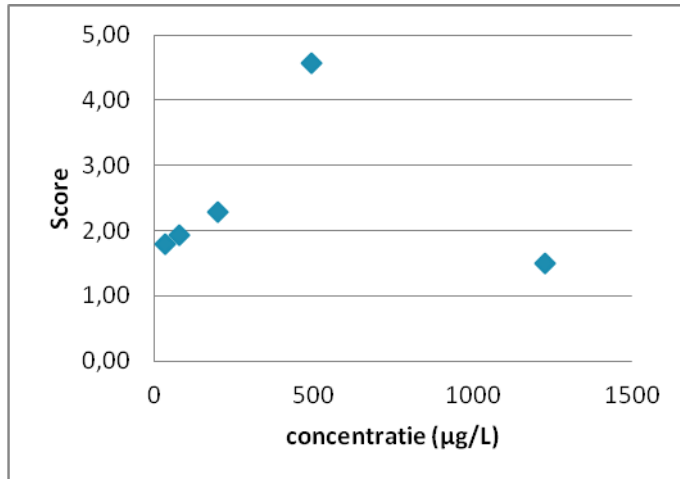
ZWAK = 1264 mg/L

MEDIUM = 3155 mg/L

STERK = 4986 mg/L

## 7 Resultaten en statistische dataverwerking ‘VANILLE’

Dezelfde methodiek als beschreven in hoofdstuk 2 werd gevolgd voor het smaakattribuut VANILLE (vanilline-oplossing).



**Figuur 11: Gemiddelde score ifv conc VANILLE**

### scoreVANILLE

Tukey HSD<sup>a</sup>

concVANILLE	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1227	14	1,50	
32	14	1,79	
79	14	1,93	
197	14	2,29	
492	14		4,57
Sig.		,172	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 14,000.



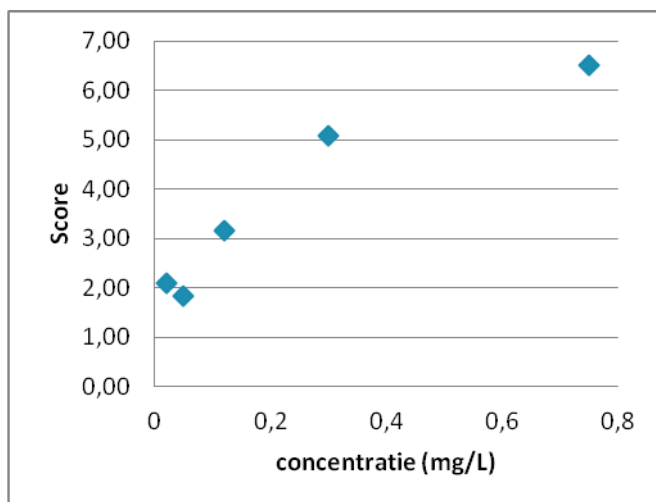
**CONCLUSIE:**

- De laagste 3 aangeboden concentraties zijn niet normaal verdeeld
- Boxplot toont dat er outliers zijn
- **Concentraties voor GOT:**

ZWAK = 124 µg/L (op basis van smaaktest juli, bevestigd in sessie augustus)  
 MEDIUM = 492 µg/L (ligt tussen 'medium' en 'medium-sterk')  
 STERK = ? uit Figuur 2 blijkt dat er iets fout is gegaan bij de (externe) aanmaak van de vanille-oplossing met de hoogste concentratie

**8 Resultaten en statistische dataverwerking 'PIKANT'**

Dezelfde methodiek als beschreven in hoofdstuk 2 werd gevolgd voor het smaakattribuut PIKANT (capsaïcine-oplossing).



**Figuur 12: Gemiddelde score ifv conc PIKANT**

**scoreCAPS**

Tukey HSD<sup>a</sup>

concCAPS	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
,0480	12	1,83			
,0190	12	2,08	2,08		
,1200	12		3,17		
,3000	12			5,08	
,7500	12				6,50
Sig.		,968	,055	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

**CONCLUSIE:**

- De laagste 3 aangeboden concentraties zijn niet normaal verdeeld
- **Concentraties voor GOT:**

ZWAK = 0.048 - 0.12 mg/L

MEDIUM = 0.12 – 0.3 mg/L

STERK = 0.75 mg/L