



Oznaczanie dekstranu metodą ICUMSA- międzynarodowe badania międzylaboratoryjne

Magdalena Kołodziejczyk, Agnieszka Górską

Częstocice, 27-28 czerwca 2023

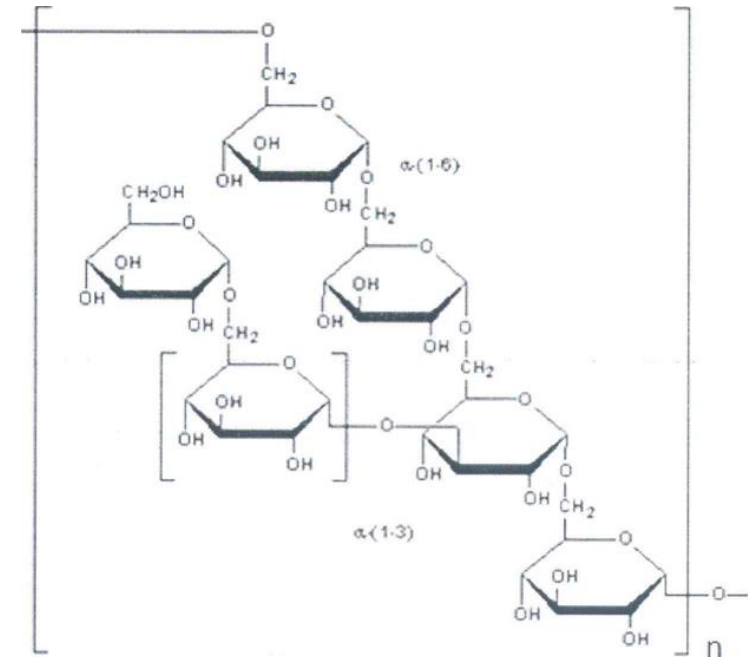


Czym jest dekstran?

Wysokocząsteczkowy, prostotańcuchowy polimer glukozy z przeważającą liczbą wiązań α -(1 \rightarrow 6) glikozydowych.

Powstaje w wyniku działania określonych gatunków bakterii, zwłaszcza *Leuconostoc mesenteroides*, z sacharozy.

Struktura i właściwości dekstranu zmieniają się w zależności od odmiany organizmów, warunków ich wzrostu (temperatura, natlenienie, pH, wilgotność, stężenie sacharozy)



Technologiczne:

- obniżenie czystości soku rzadkiego
- spowolnienie procesu filtracji
- spowolnienie procesu krystalizacji
- utrudnienia wirowania cukru

Finansowe:

- zawyżanie polaryzacji
- obniżenie dobowego przerobu buraków
- wzrost strat cukru

Metody oznaczania dekstranu

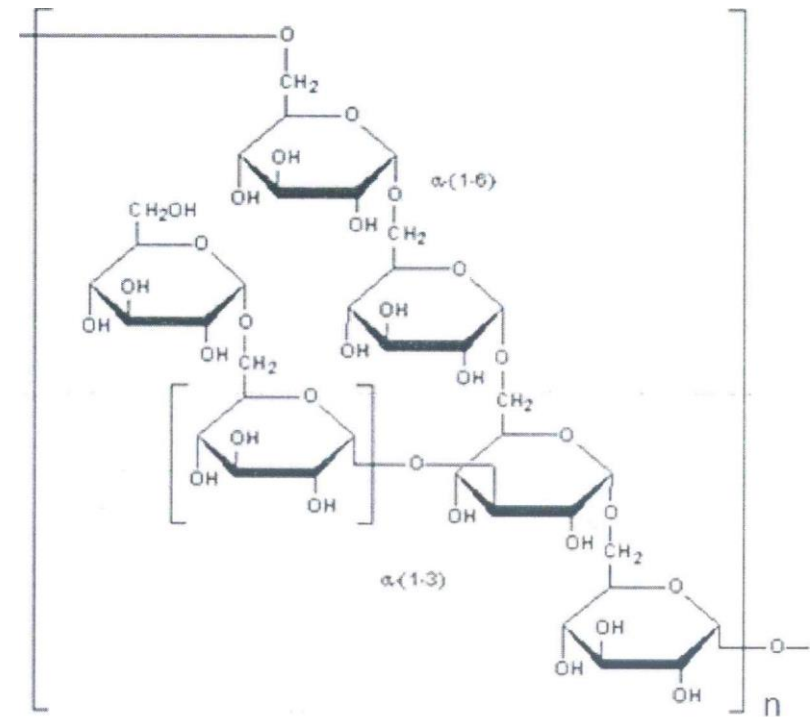
- Metoda z zastosowaniem mgiełki alkoholowej ICUMSA
- Metoda enzymatyczna
- Metoda immunologiczna
- Metoda Roberts'a
- MIR
- NIR
- NMR
- MAU



Metoda GS 8-19 (2017)- tymczasowa

Dekstran w surowym soku z buraków powoduje poważne problemy podczas produkcji, zwłaszcza w filtracji.

Metodę tę można wykorzystać do śledzenia zmian zawartości dekstranu podczas przerobu buraków jak i przechowywania soku gęstego.



Metodyka pomiaru

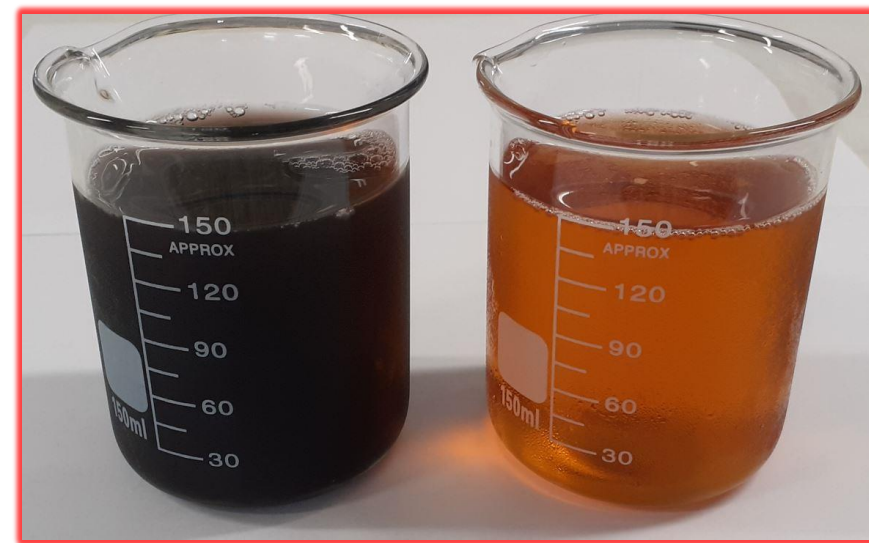
Laboratoria analizowały próbki zgodnie z procedurą ICUMSA GS8-19(2017). Uczestnicy zostali poproszeni o wykonanie dwóch krzywych kalibracji:

- z dekstranem T500
- z dekstranem D5376 (1500kDa-2800kDa)

W celu udowodnienia, czy lepsze wyniki można uzyskać przy użyciu cięższego dekstranu, który uważany jest za najbardziej podobny do dekstranu naturalnie występującego w burakach. Próbki soku surowego i soku gęstego oznaczane były dwukrotnie.



- odsączyć sok surowy na drobnym sicie dla usunięcia miazgi
- do kolby miarowej (100ml) przenieść 50ml soku
- dodać 10ml TCA i dopełnić wodą do kreski
- przelać roztwór do zlewki i dodać 2 czubate łyżeczki(ok.6-8g) przygotowanej wcześniej ziemi krzemkowej, wymieszać, przefiltrować mieszaninę przez lejek Buchnera używając bibuły filtracyjnej pod próżnią, pierwsze 10-15 ml filtratu należy użyć do opłukania lejka oraz kolby
- 12,5ml filtratu wprowadzić do dwóch czystych kolb miarowych o poj. 25ml
- do jednej z kolb powoli wprowadzić alkohol do poziomu kreski, w trakcie wprowadzania należy delikatnie obracać kolbą, czas wprowadzania alkoholu powinien trwać od 30-60sekund. Wymieszać zawartość kolby poprzez trzykrotne delikatne odwrócenie kolby, włączyć stoper natychmiast po zakończeniu mieszania.
- drugą kolbę dopełnić do kreski wodą destylowaną i wymieszać- ślepa próba
- ok. 17-18 minut po zakończeniu etapu mieszania trzykrotnie przepłukać kufkę roztworem ślepej próby, a następnie napełnić ją roztworem, upewnić się że nie ma smug
- po upływie 20 minut \pm 10sekund od zakończenia mieszania odczytać wynik roztworu w odniesieniu do próby ślepej przy długości fali 720nm. Jeżeli nastąpiła flokulacja mgiełki dekstranu należy ponownie przeprowadzić analizę
- wynik odczytujemy z krzywej wzorcowej

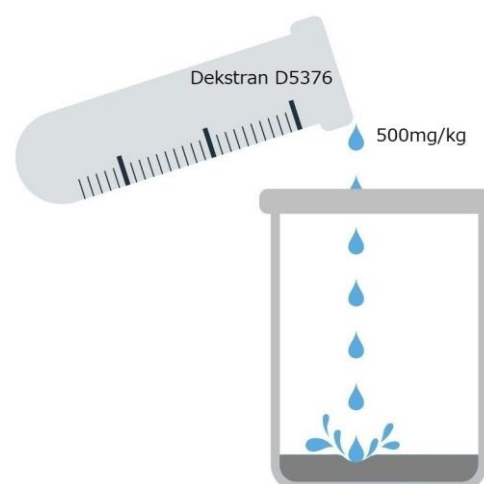
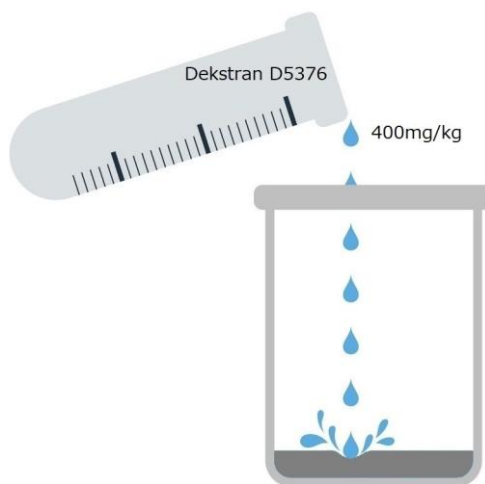
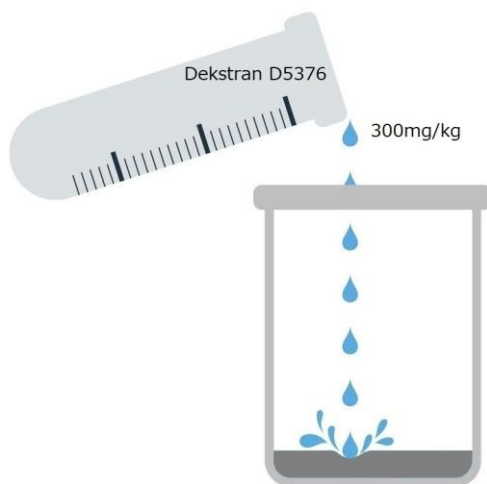
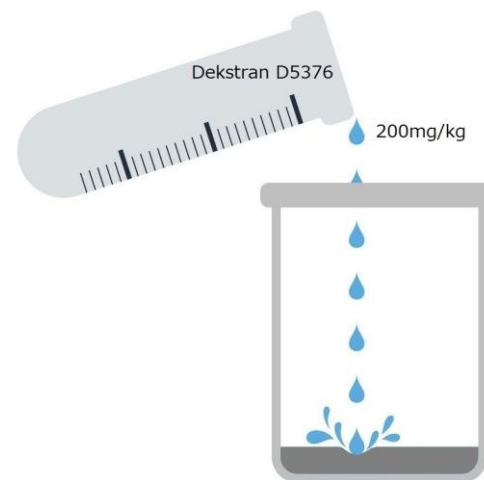
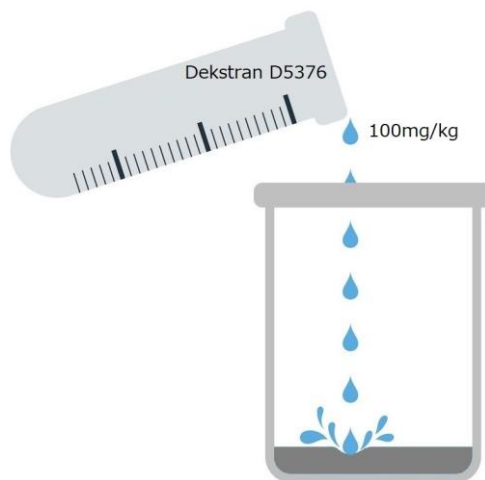
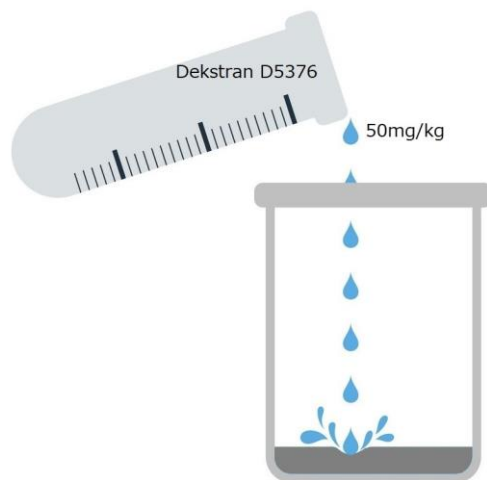


Dalsze doskonalenie, wspólne testowanie i walidacja metody GS8-19 (2009)

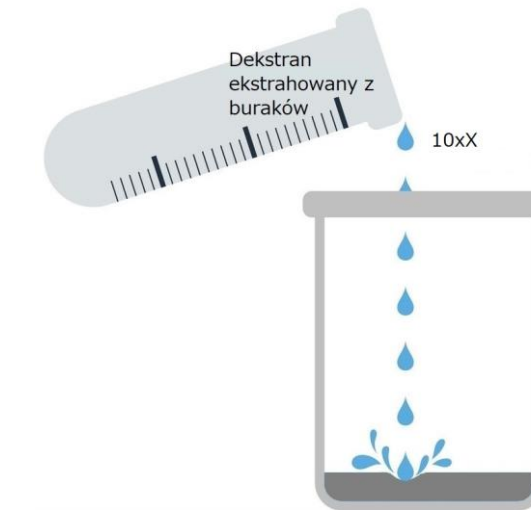
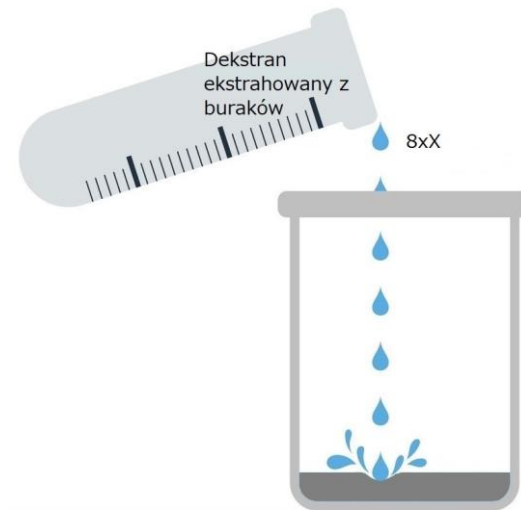
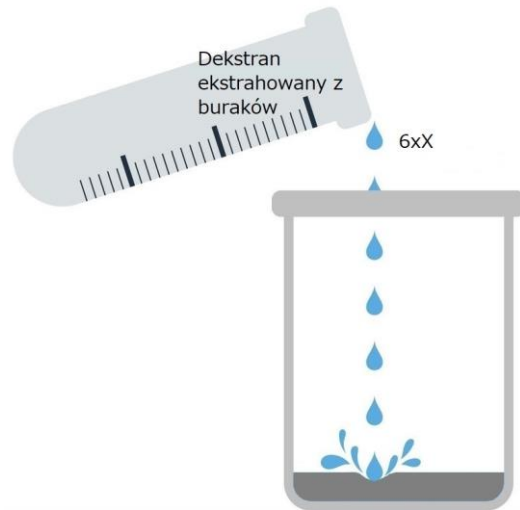
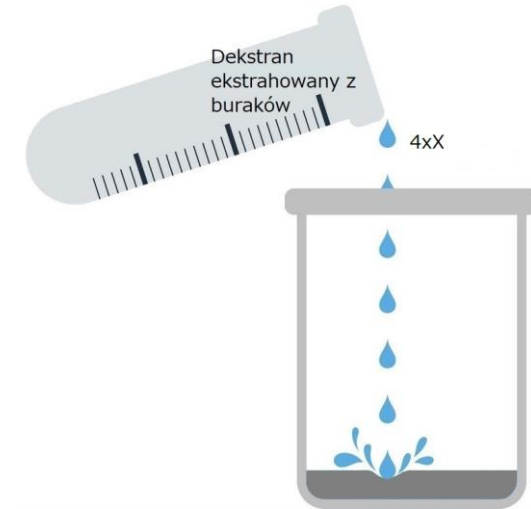
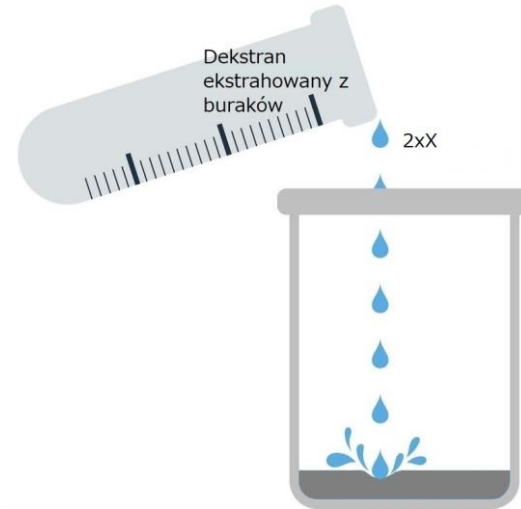
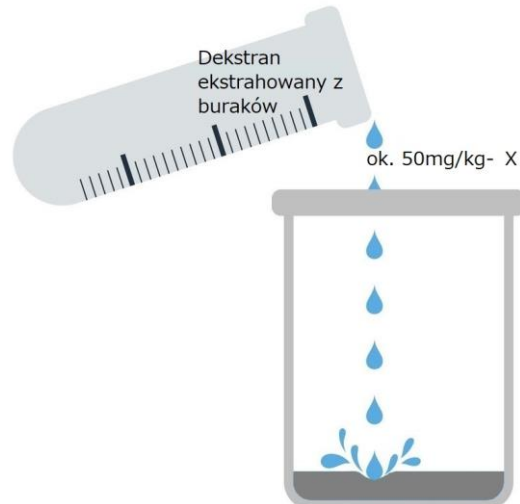
- Uczestniczące laboratoria: 10 laboratoriów zlokalizowanych w krajach takich jak: Austria, Francja, Niemcy, Holandia i Polska.
- przeanalizowano 12 próbek soku surowego oraz 5 próbek soku gęstego
- zakres stężeń dekstranu w próbkach: sok surowy 50-500mg/kg; sok gęsty 12,5-200mg/kg
- 9 laboratoriów zgłosiło wyniki, 1 laboratorium zgłosiło problemy z analizą



Próbki soki surowego wzbogacone Dekstranem D5376



Próbki soki surowego wzbogacone dekstranem ekstrahowanym z buraków



T500

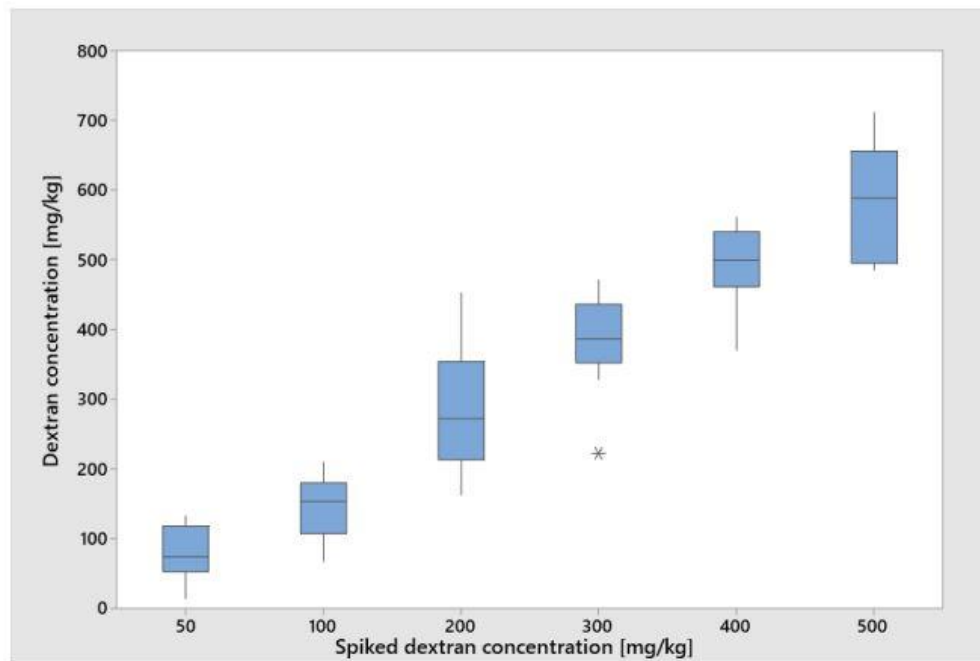


Diagram1: Stężenie dekstranu w soku surowym z dodatkiem D5376 analizowane za pomocą krzywej kalibracyjnej wykonanej dekstranem T500

D5376

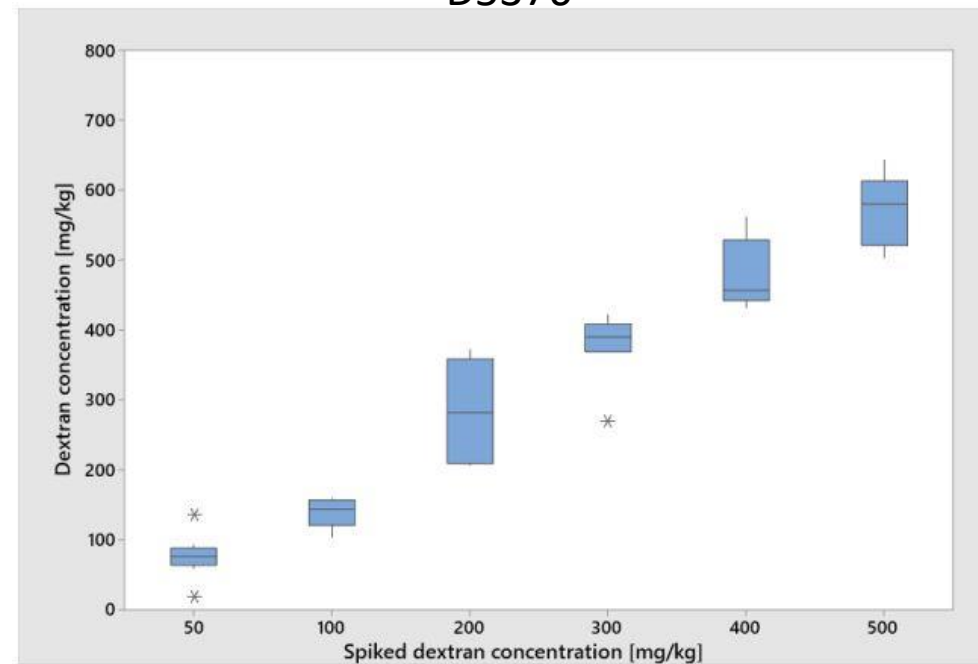
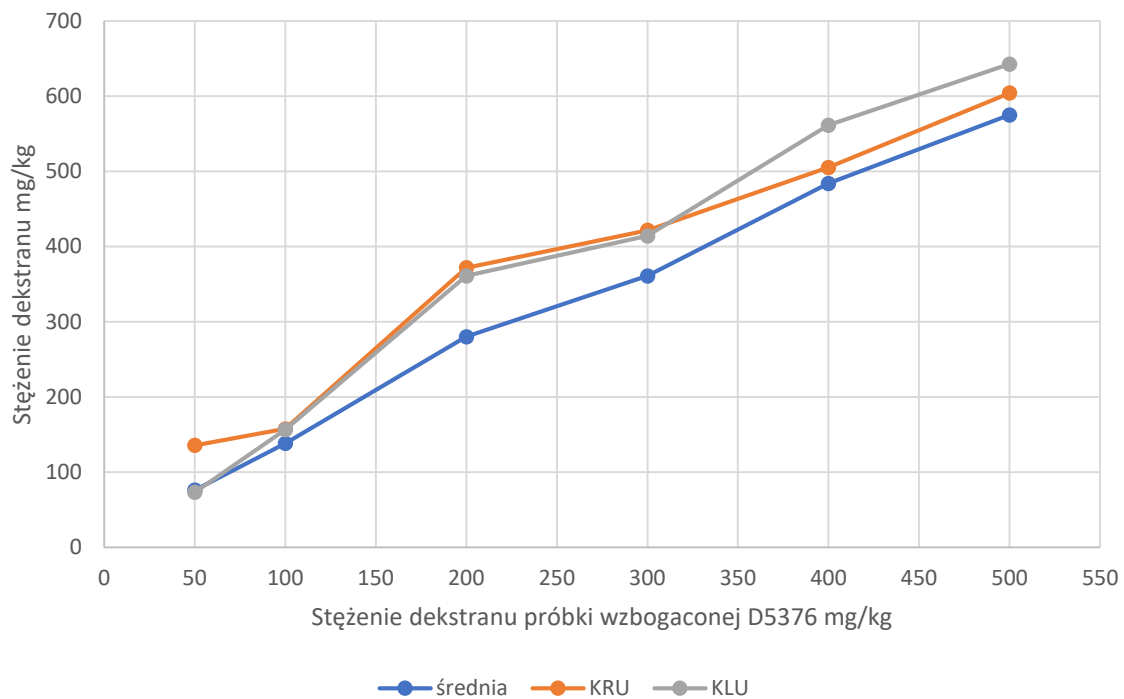
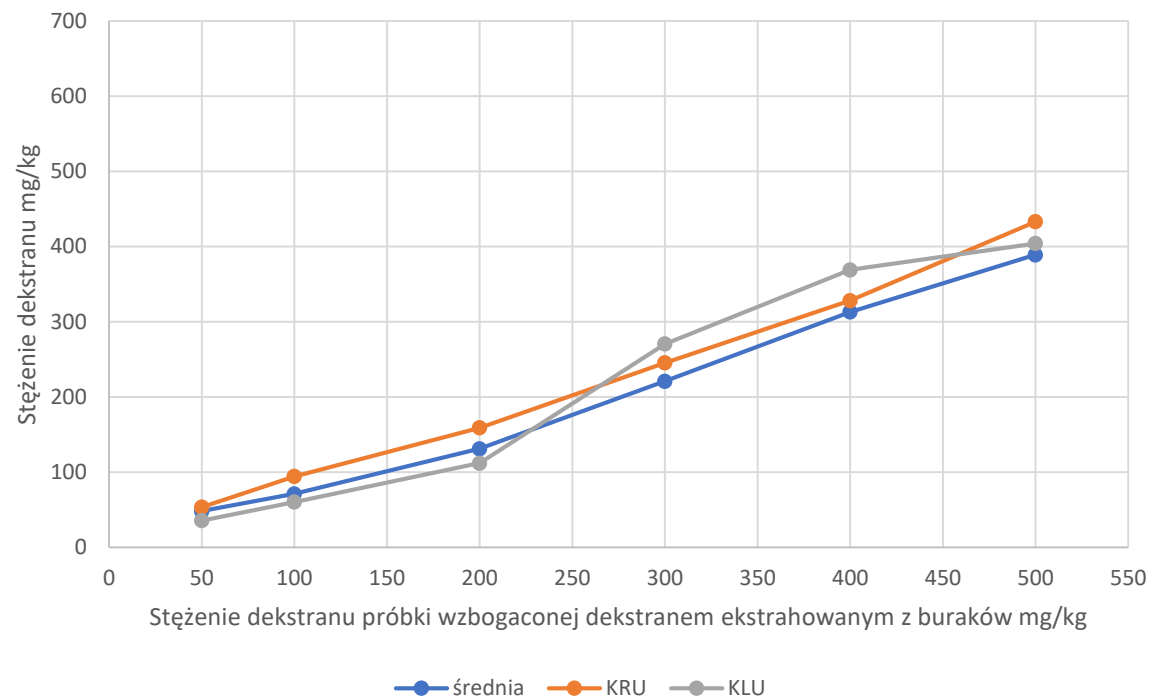


Diagram2: Stężenie dekstranu w soku surowym z dodatkiem D5376 analizowane za pomocą krzywej kalibracyjnej wykonanej dekstranem D5376

D5376



Dekstran ekstrahowany z buraków



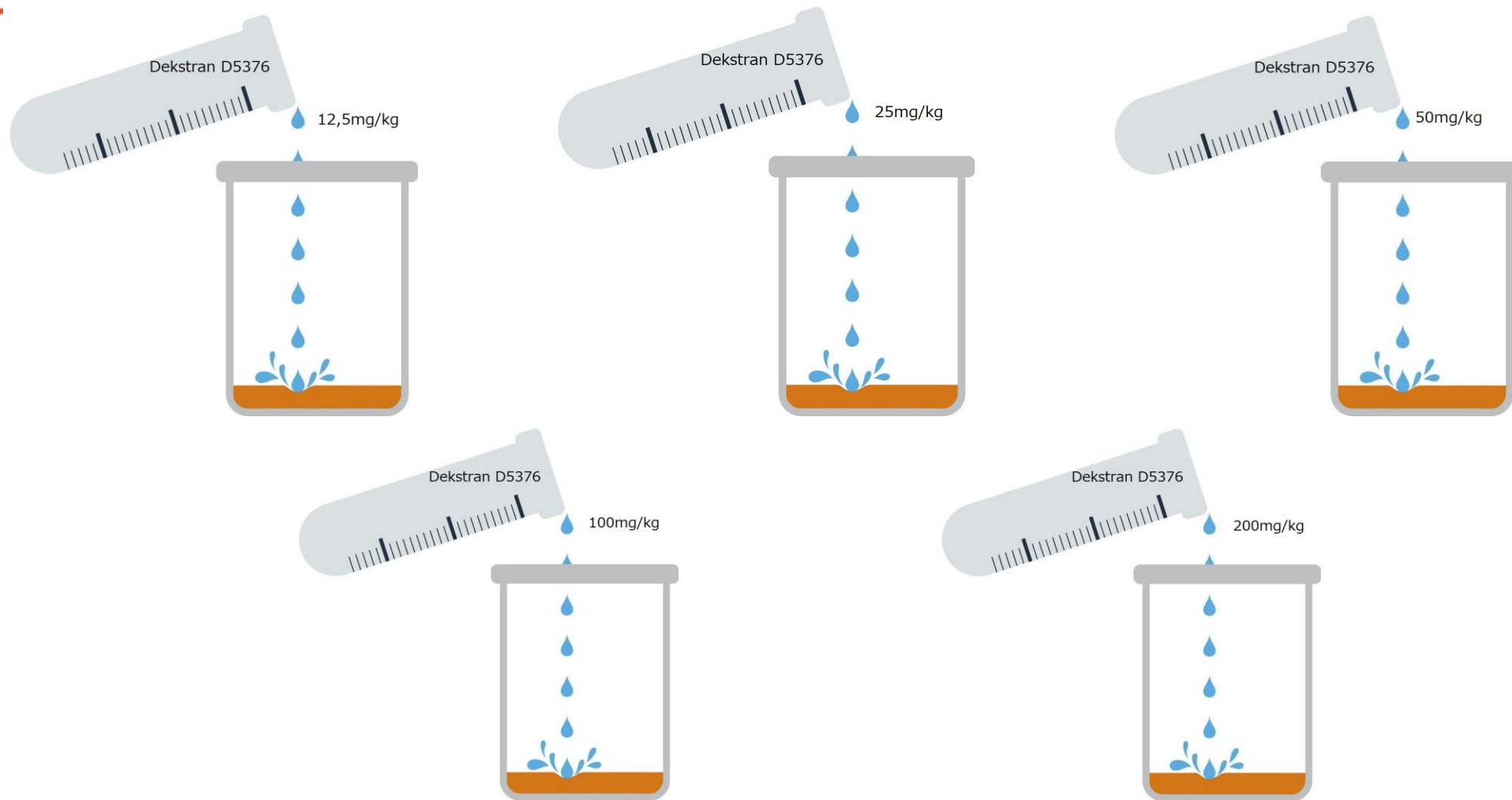
	50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg	300 mg/kg	400 mg/kg	500 mg/kg
Number of participating laboratories	10	10	10	10	10	10
Number of data sets	9	9	9	9	9	9
Number of accepted results**	18	18	18	18	18	18
Mean [mg/kg]	76	138	280	361	484	575
Repeatability standard deviation s_r [mg/kg]	13	15	53	12	14	31
Repeatability relative standard deviation RSD_r [%]	17	11	19	3	3	5
Reproducibility standard deviation s_R [mg/kg]	32	23	79	64	49	54
Reproducibility relative standard deviation RSD_R [%]	42	17	28	18	10	9
Repeatability r^* [mg/kg]	38	44	149	33	41	87
Reproducibility R^* [mg/kg]	91	65	223	182	140	154
Horrat value	5.1	2.2	4.1	2.7	1.6	1.5

Tabela1: Statystyczna ocena wyników oznaczania dekstranu w próbkach surowego soku wzbogaconych różnymi stężeniami dekstranu, krzywa kalibracyjna wykonana za pomocą D5376. *poziom prawdopodobieństwa 95%, **Liczba zaakceptowanych wyników po teście odstającym Dixona r_{11} ,

	X	2×X	4×X	6×X	8×X	10×X
Number of participating laboratories	10	10	10	10	10	10
Number of data sets	8	9	9	9	8	8
Number of accepted results**	16	18	18	18	16	17
Mean [mg/kg]	48	71	131	221	313	389
Repeatability standard deviation s_r [mg/kg]	9	11	14	23	30	62
Repeatability relative standard deviation RSD_r [%]	19	15	11	10	10	16
Reproducibility standard deviation s_R [mg/kg]	11	15	31	47	37	64
Reproducibility relative standard deviation RSD_R [%]	23	22	24	21	12	16
Repeatability r^* [mg/kg]	26	30	40	64	86	175
Reproducibility R^* [mg/kg]	31	44	87	133	105	180
Horrat value	2.5	2.6	3.1	3.0	1.8	2.5

Tabela2: Statystyczna ocena wyników oznaczania dekstranu w próbkach surowego soku wzbogaconych różnymi stężeniami dekstranu ekstrahowanego z buraków, krzywa kalibracyjna wykonana za pomocą D5376.*poziom prawdopodobieństwa 95%,
**Liczba zaakceptowanych wyników po teście odstającym Dixona r_{11} ,

Próbki soku gęstego wzbogacone dekstranem D5376



Analiza wyników

T500

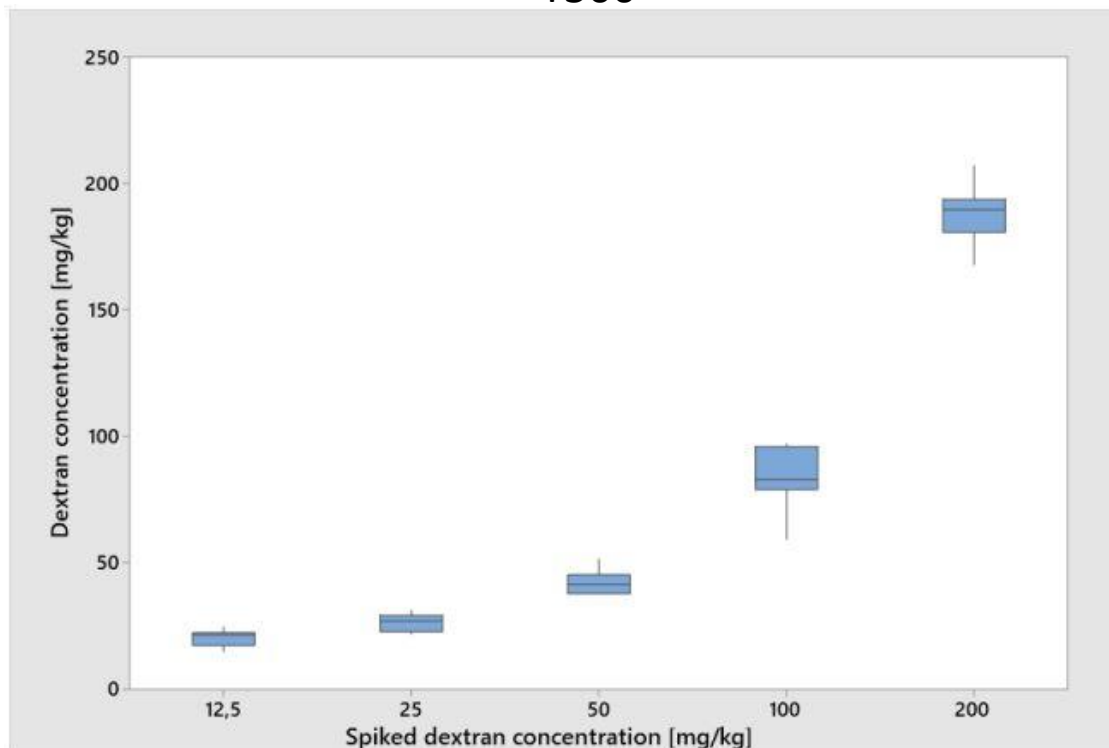


Diagram3: Stężenie dekstranu w soku gęstym z dodatkiem D5376 analizowane za pomocą krzywej kalibracyjnej wykonanej dekstranem T500

D5376

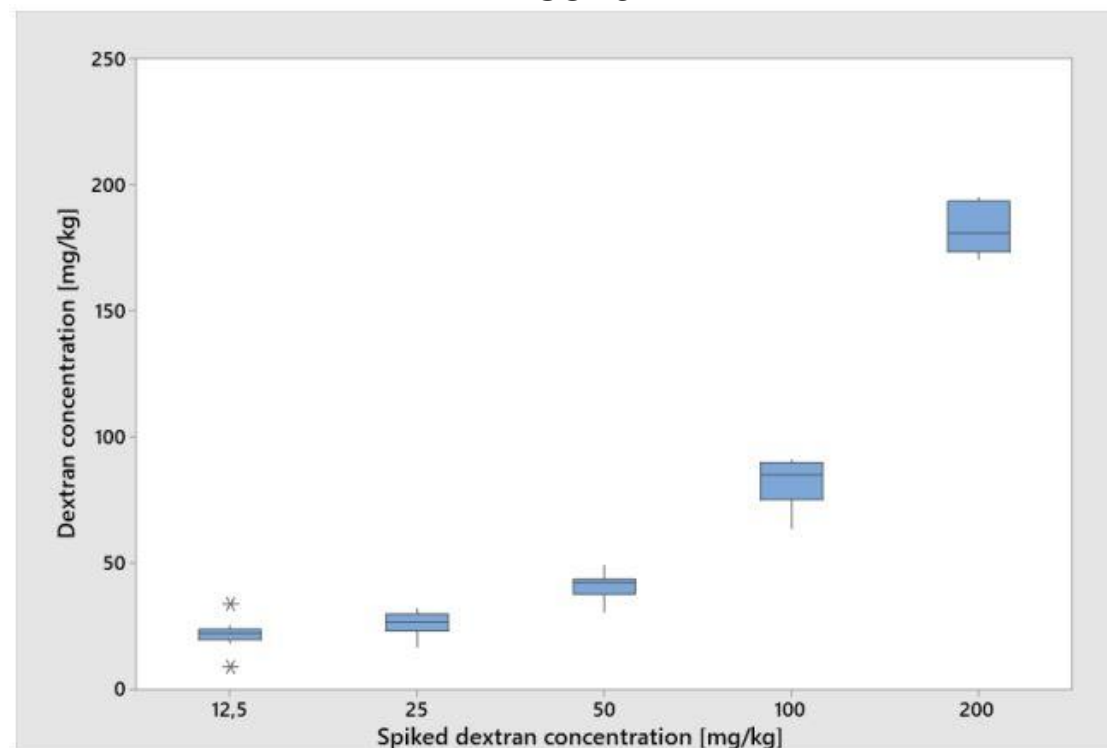
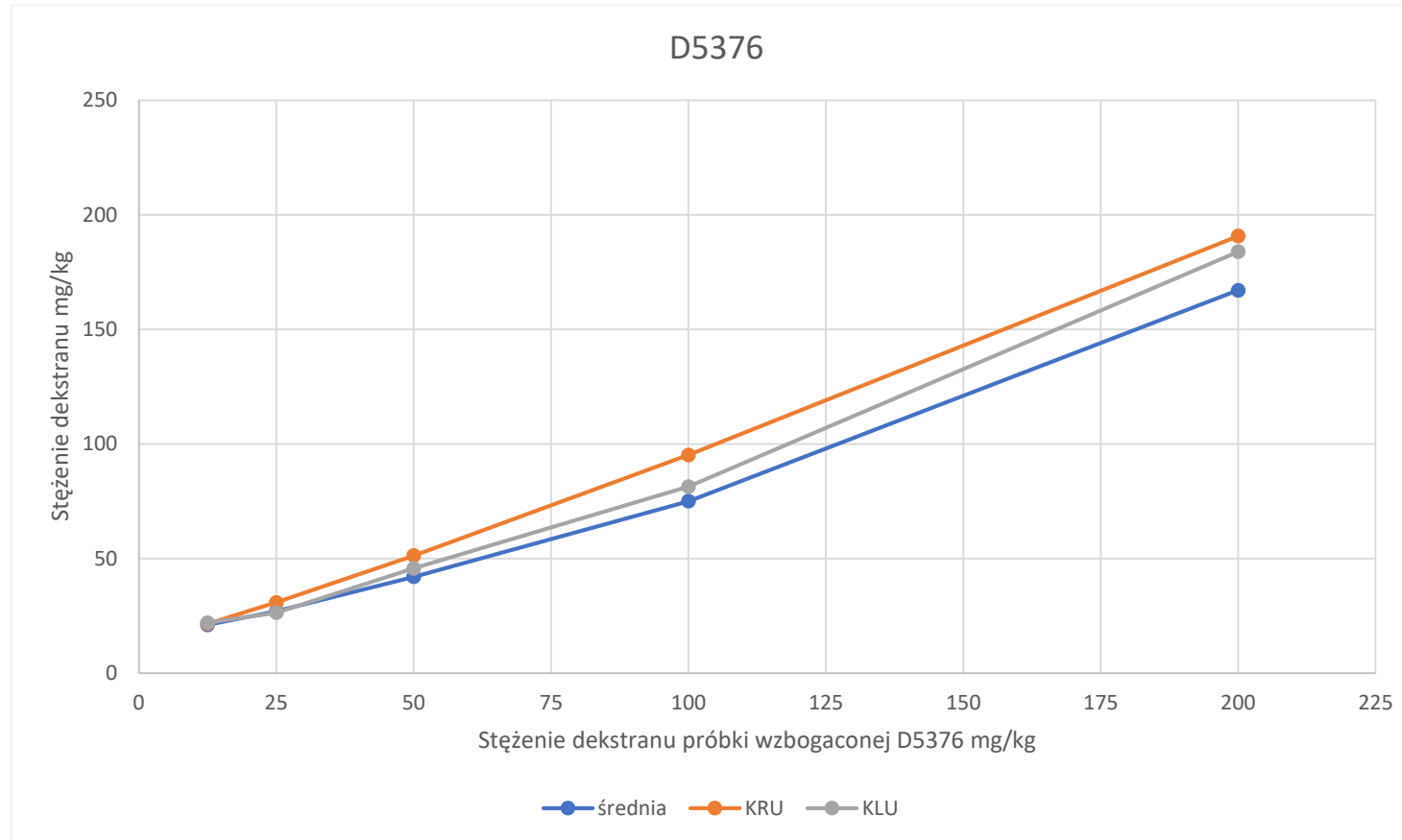


Diagram4: Stężenie dekstranu w soku gęstym z dodatkiem D5376 analizowane za pomocą krzywej kalibracyjnej wykonanej dekstranem D5376



	12.5 mg/kg	25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg
Number of participating laboratories	10	10	10	10	10
Number of data sets	8	8	8	9	9
Number of accepted results**	16	16	16	18	18
Mean [mg/kg]	21	27	42	75	167
Repeatability standard deviation s_r [mg/kg]	2	5	5	6	8
Repeatability relative standard deviation RSD_r [%]	10	19	12	8	5
Reproducibility standard deviation s_R [mg/kg]	3	5	6	15	24
Reproducibility relative standard deviation RSD_R [%]	15	18	14	21	14
Repeatability r^* [mg/kg]	6	14	15	16	22
Reproducibility R^* [mg/kg]	9	14	17	44	68
Horrat value	1.5	1.9	1.6	2.5	1.9

Tabela3. Statystyczna ocena wyników oznaczania dekstranu w próbkach soku gęstego wzbogaconych różnymi stężeniami dekstranu, krzywa kalibracyjna wykonana za pomocą T500. *poziom prawdopodobieństwa 95%, **Liczba zaakceptowanych wyników po teście odstającym Dixona r_{11}

SOK SUROWY:

- Zalecenie użycia dekstranu D5376 (Dextran z *Leuconostoc mesenteroides* (1500 – 2800 kDa) do wykonania krzywej kalibracyjnej (Podczas korzystania z krzywej kalibracji ze standardami z Dextran D5376 średnie wartości wyników analitycznych uczestniczących laboratoriów były bardziej zbliżone do siebie i bliższe wartości docelowej)
- Wysokie wartości powtarzalności i odtwarzalności metody szczególnie dla niskich stężeń dekstranu < 200 mg/kg
- Większa zmienność powtarzalności i odtwarzalności metody dla próbek wzbogaconych dekstranem ekstrahowanym z buraków

SOK GĘSTY:

- Zalecenie użycia dekstranu T500 do wykonania krzywej kalibracyjnej
- Wysokie wartości odtwarzalności
- Wysokie wartości powtarzalności szczególnie dla niskich stężeń dekstranu

- Wstępna rekomendacja dodatkowego porównania międzylaboratoryjnego dla soku surowego
- Potwierdzenie zalecenia przy użyciu D5376 (1500 – 2800 kDa) dla krzywej kalibracji



Dziękujemy za uwagę

Krajowa Grupa Spożywcza S.A.
87-100 Toruń ul. Kraszewskiego 40
Tel.: +48 56 650 11 00
sekretariat@kgssa.pl

www.kgssa.pl