

Ontwikkeling en validatie van colorimetrische methoden voor de bepaling van kwaliteitsparameters van vruchtensappen en ciders met de Thermo Scientific Gallery

Pär Meijen

Master IW biochemie

Situering

Konings in Zonhoven zoekt voortdurend nieuwe methoden om de kwaliteit van hun vruchtensappen en ciders te verbeteren. Accurate bepaling van de samenstelling van vruchtensap en ciders is essentieel om een constante, goede kwaliteit te waarborgen. Verder kunnen er stoffen voorkomen in vruchtensap of cider die ongewenste effecten teweeg brengen. Voorbeelden van deze stoffen zijn sorbitol, dat een laxerend effect heeft in te hoge concentraties, en galacturonzuur, dat mogelijk een bruinkleuring veroorzaakt [1]. Deze componenten kunnen momenteel enkel via externe analyses bepaald worden die te duur en traag zijn om bruikbaar te zijn in een productieomgeving.

Doel

Aanpassing en validatie van fotometrische testen voor de accurate bepaling van sorbitol, galacturonzuur, appelzuur en citroenzuur met een lagere kostprijs en kortere analysetijd dan de externe analyse. De testen worden uitgevoerd met een automatische fotometrische analyzer.

Materiaal

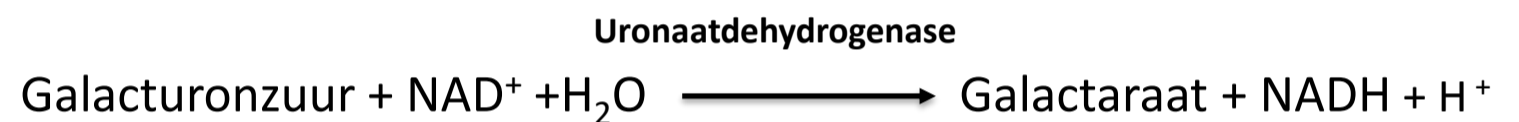
Thermo Scientific Gallery

- Automatische verdunning
- Meerdere gelijktijdige analyses
- Klein reactievolume
- Eenvoudige staalvoorbereiding



Figuur 1: Thermo Fisher Scientific Gallery analyzer

Methode



Figuur 2: reactie gebruikt voor de bepaling galacturonzuur. De bepaling van citroenzuur, appelzuur en sorbitol verloopt volgens gelijkaardige reacties.

De enzymatische testkits gebruiken steeds een reactie waarbij NADH gevormd of verbruikt wordt in een hoeveelheid equivalent aan de te bepalen component. NADH wordt bepaald bij 340 nm, na opstellen van een ijklijn wordt de oorspronkelijke concentratie van het substraat berekend.

Resultaten

	Juistheid (%)	Variatiecoëfficiënt (%)	Kostprijs per test (€)	Analysetijd (min)
Galacturonzuur	91,0	2,51	0,20	10
Sorbitol	100,4	2,75	0,26	15
L-Appelzuur	100,1	2,87	0,16	6
Citroenzuur	96,7	2,23	0,18	5

Tabel 1: Resultaten van de validatie van de enzymatische bepaling van galacturonzuur, sorbitol, L-appelzuur en citroenzuur met de reproduceerbaarheid uitgedrukt als de variatiecoëfficiënt.

Uit tabel 1 blijkt dat de gevalideerde methodes een juistheid hebben die zoals gewenst dicht bij 100% ligt. De reproduceerbaarheid wordt weergegeven als de variatiecoëfficiënt en benadert de variatiecoëfficiënt van de methodes ontwikkeld door de fabrikant van de Thermo Scientific Gallery. De kostprijs van een externe analyse kan oplopen tot 70 euro per staal per component. De enzymatische testen kosten slechts een fractie van een externe analyse. Daarnaast bedraagt de analysetijd van de componenten maximaal 15 minuten. Omdat er meerdere analyses tegelijkertijd kunnen lopen betekent dit dat het resultaat van de bepaling van galacturonzuur, sorbitol, appelzuur en citroenzuur in één of meerdere stalen steeds na 15 minuten af te lezen is op het toestel.

Besluit

Uit de validatie blijkt dat de analyses de gewenste juistheid en reproduceerbaarheid hebben die vergelijkbaar is met andere methodes. Daarnaast is de kostprijs laag genoeg om de analyses regelmatig uit te voeren en is de analysetijd voldoende kort om in een productieomgeving te gebruiken.

Bibliografie

[1] Ibarz, A., Pagán, A., Tribaldo, F., & Pagán, J. (2006). Improvement in the measurement of spectrophotometric data in the m-hydroxydiphenyl pectin determination methods. *Food Control*, 17(11), 890–893. <http://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.06.007>

Promotoren / Copromotoren: Intern: ing. L. Pauls
Extern: dr. H. Damm
ir. E. Van De Weyer