

RAPORT Z BADAŃ

OTRZYMYWANIE ORAZ CHARAKTERYSTYKA PREPARATU POLIFENOLOWEGO OTRZYMANEGO W DRODZE EKSTRAKЦИИ Z WYCHMIELIN EO4

I. PRZEDMIOT ORAZ ZAKRES BADAŃ

Przedmiotem badań był preparat polifenolowy otrzymany w wyniku ekstrakcji wychmielin EO4, zgodnie z przedmiotem umowy zawartej pomiędzy Politechniką Łódzką oraz firmą ChemIn Dorota Piłakowska-Pietras w ramach realizacji projektu „Przygotowanie preparatów polifenolowych pochodzenia roślinnego o właściwościach przeciwpłytkowych i kardioprotekcyjnych – FLAWOPIRYNA”.

Zakres badań obejmował wykonanie analiz dla preparatu otrzymanego w procesie suszenia rozpyłowego i dotyczył potwierdzenia tożsamości produktu metodą HPLC, określenia parametrów organoleptycznych, fizykochemicznych, zawartości substancji aktywnej oraz zanieczyszczeń niedopuszczalnych w żywności.

II. EKSTRAKCYJA SUROWCA ORAZ OTRZYMANIE PREPARATU POLIFENOLOWEGO

Otrzymywanie preparatu realizowano poprzez ekstrakcję 100kg surowca wodnym roztworem acetonu (80% wag.), stosowanym w 12-krotnym nadmiarze. Następnie roztwór, po odparowaniu acetonu, przemywano czterokrotnie porcjami chlorku metylenu. Po zakończeniu przemywania, roztwór odparowano z pozostałości chlorku metylenu i poddano suszeniu rozpyłowemu. Otrzymano 9,7kg produktu. Uzyskana wydajność procesu wynosi 9,7%.

III. WYNIKI ANALIZ LABORATORYJNYCH

Określenie zawartości substancji czynnej oraz potwierdzenie tożsamości produktu metodą HPLC wykonano w laboratorium firmy ChemIn.

Pomiary spektrofotometryczne zostały wykonane techniką UV/Vis przy użyciu aparatu Nicolet Evolution 600 firmy ThermoElectron z oprogramowaniem VISIONpro V4.00. Droga spektralna wynosiła 10mm. Pomiary wykonywane były w temperaturze $23^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$. Do pomiarów przygotowano roztwory wodne produktów o stężeniu $500\text{mg}/\text{dm}^3$. Analizy przeprowadzono dla trzech niezależnych próbek każdego związku. Do oznaczenia zawartości związków polifenolowych użyto metody Folina-Ciocalteu, opartej na właściwościach redukujących związków polifenolowych.

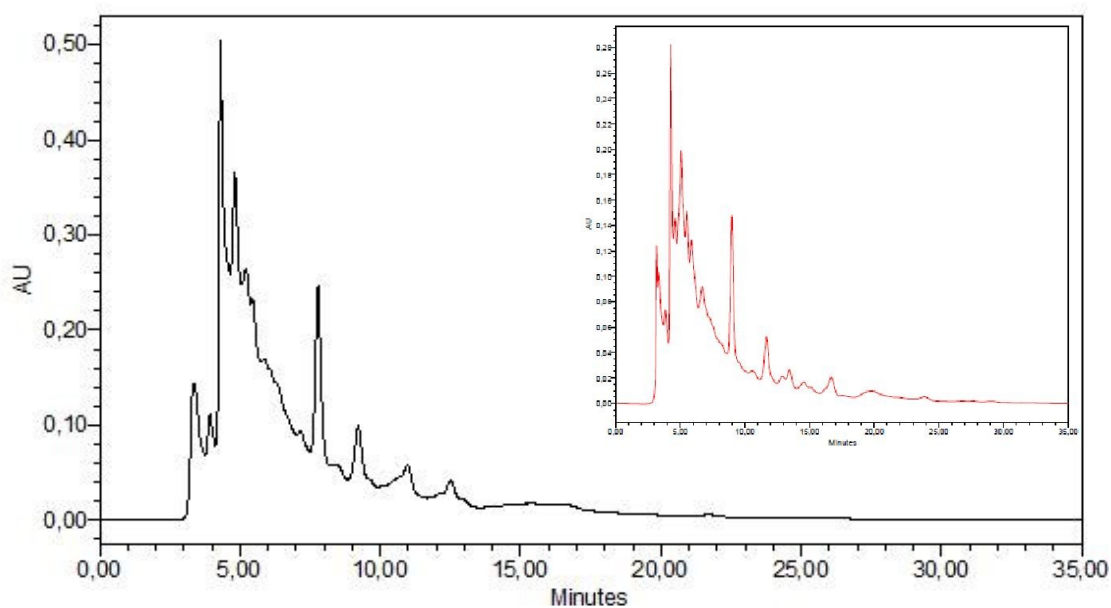
Oznaczenie wykonano mierząc absorbancję próby właściwej wobec próby odniesienia przy długości fali równej 760nm. Do przygotowania próby właściwej pobrano 1cm³ próbki. Zawartość związków polifenolowych obliczono na podstawie krzywej kalibracyjnej przygotowanej dla kwasu galusowego o stężeniu 0,2mg/cm³.

Analizę HPLC wykonano z wykorzystaniem aparatury firmy Waters: pompa 600, autosampler 717 plus, detektor UV - DAD 2996. Pomiar wykonano w odwróconym układzie faz, przy użyciu kolumny X-Terra RP18 5m, 150x4,6mm. Temperatura kolumny wynosiła 30°C. Jako fazę ruchomą użyto mieszaniny 2% wodny roztwór kwasu octowego/acetonitryl w stosunku 80:20 (objętościowo). Zastosowano przepływ izokratyczny o natężeniu 0,5 cm³/min. Próbkę przygotowano w postaci wodnych roztworów o stężeniu 10mg/cm³. Objętość nastrzykiwanego roztworu wynosiła 10 mm³. Zastosowano detekcję przy długości fali 280nm, 320nm oraz 360nm.

Analiza parametrów organoleptycznych, fizykochemicznych oraz zawartości zanieczyszczeń niedopuszczalnych dla żywności została wykonana przez zewnętrzne akredytowane laboratorium. Raporty z badań znajdują się do wglądu w siedzibie firmy ChemIn.

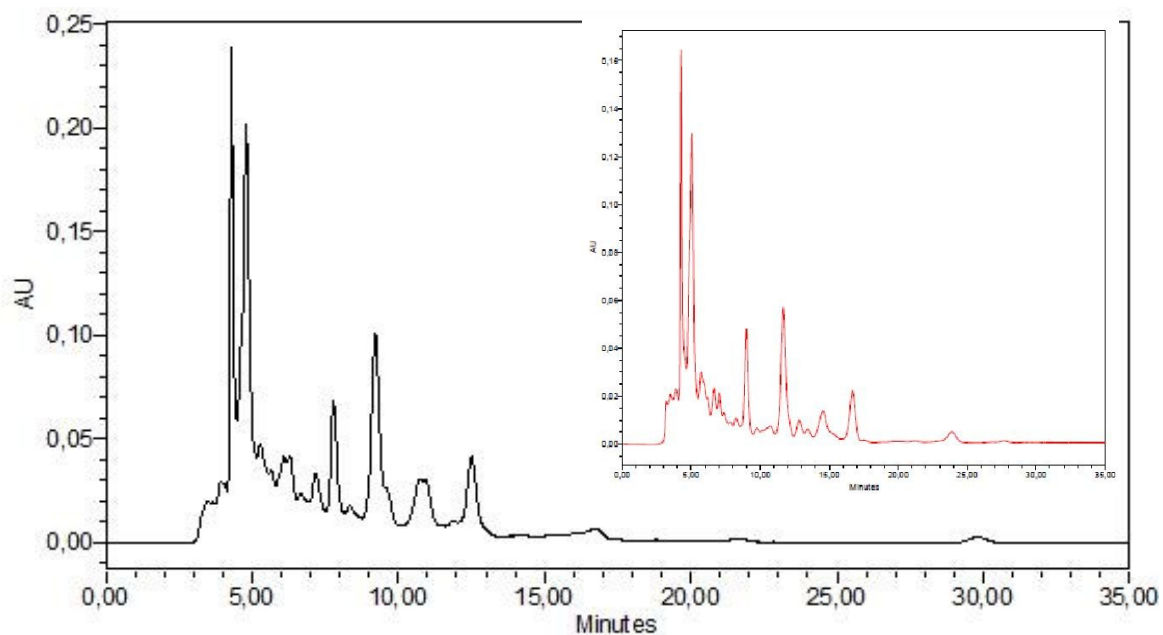
III.1. Chemiczne potwierdzenie tożsamości ekstraktu metodą HPLC

Ogólny profil polifenolowy otrzymany metodą HPLC/UV przy długościach fal 280nm, 320nm oraz 360nm przedstawiono na Rysunkach 1-3.



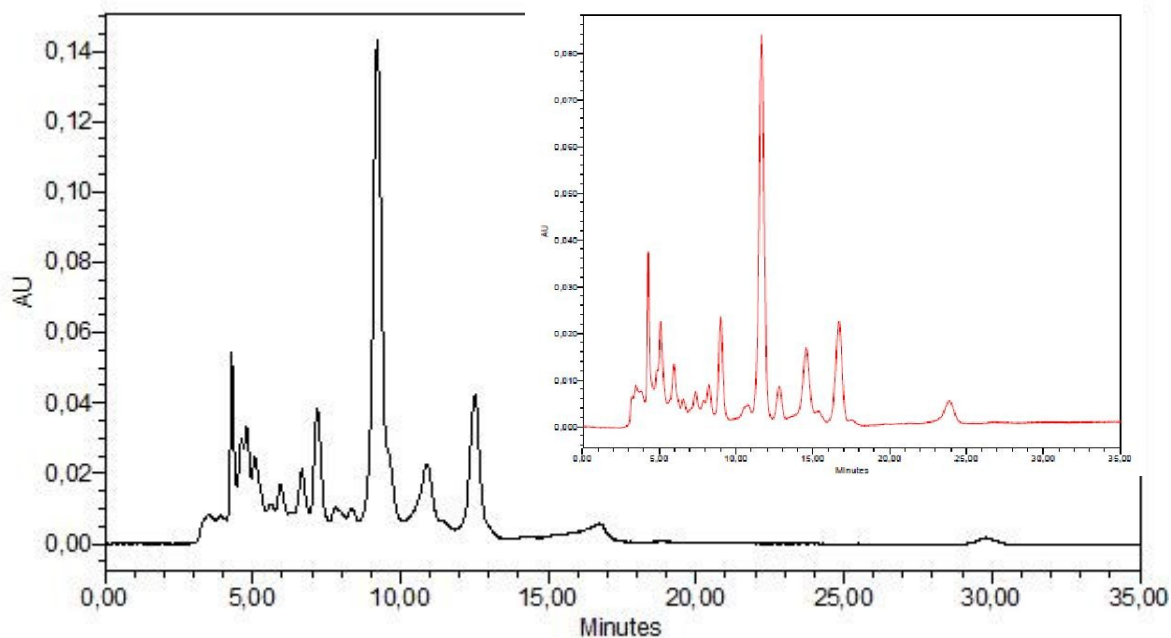
Rysunek 1. Ogólny profil polifenolowy otrzymany metodą HPLC/UV przy długości fali 280nm.

W ramce zamieszczono widmo produktu otrzymanego w ramach umowy z 13.08.2012



Rysunek 2. Ogólny profil polifenolowy otrzymany metodą HPLC/UV przy długości fali 320nm.

W ramce zamieszczono widmo produktu otrzymanego w ramach umowy z 13.08.2012



Rysunek 3. Ogólny profil polifenolowy otrzymany metodą HPLC/UV przy długości fali 360nm.

W ramce zamieszczono widmo produktu otrzymanego w ramach umowy z 13.08.2012

III.2. Ogólna zawartość związków polifenolowych.

Zawartość substancji czynnej w produkcie, określoną jako ogólną zawartość związków polifenolowych, wyznaczono stosując metodę Folina-Ciocalteu. Pomiary wykonano dla 3 próbek produktu. Średnia ogólna zawartość polifenoli w produkcie wyniosła 265 mg/g. Szczegółowe wyniki pomiarów przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Wyniki pomiarów dla oznaczania ogólnej zawartości związków polifenolowych w preparacie uzyskanym z ekstrakcji wychmielin

Nr próbki	Wartości oznaczeń polifenoli ogółem		
	A_{760nm}	Zawartość w mg/cm^3	Zawartość w mg/g
1	0,272	0,1341	268,25
2	0,265	0,1307	261,34
3	0,269	0,1326	265,29
średnia	$0,269 \pm 0,004$	$0,1325 \pm 0,0017$	$264,96 \pm 3,46$

błąd pomiaru określony jako odchylenie standardowe

III.3. Analiza produktu oraz surowca pod kątem obecności zanieczyszczeń niedopuszczalnych dla żywności

Preparat polifenolowy charakteryzuje się praktycznym brakiem drobnoustrojów oraz pleśni i drożdży. Nie stwierdzono obecności bakterii chorobotwórczych. Badania wykonane dla surowca wykazały występowanie kolonii drobnoustrojów, a także drożdży i pleśni. Wyniki otrzymane dla produktu oraz surowca przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Wyniki badań mikrobiologicznych próbek preparatu polifenolowego oraz surowca – wychmielin EO4.

Badanie		Zawartość	
Badany parametr	Metodyka badania w/g	Produkt	Surowiec
Ogólna liczba drobnoustrojów	PN-EN ISO 4833:2004 + Ap1:2005	$<1,0 \times 10^1$ jtk/g	$5,0 \times 10^3$ jtk/g
Drożdże i pleśnie w 1g	PB-33/LM wyd. 2 z dn. 31.05.2010	$<1,0 \times 10^1$ jtk/g	$7,7 \times 10^1$ jtk/g
Staphylococcus aureus w 1g	PN-EN ISO 6888-3:2004 + AC:2005	nb	nb
Escherichia coli w 1g	PN-ISO 7251:2006	nb	nb
Salmonella spp. w 25g	PN-EN ISO 6579:2003	nb	nb

Badania zawartości metali ciężkich w produkcie nie wykazała (w granicy wykrywalności stosowanych metod) obecności kadmu i ołowiu. Oznaczono niewielką zawartość rtęci, na poziomie 6µg/kg. Stosowany do ekstrakcji surowiec zawiera kadm oraz większe od produktu ilości rtęci. Obecności ołowiu w surowcu nie stwierdzono. Wyniki zestawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Wyniki oznaczeń zawartości metali ciężkich dla próbek preparatu polifenolowego oraz surowca – wychmielin EO4.

Badanie		Zawartość	
Badany parametr	Metodyka badania w/g	Produkt	Surowiec
Kadm	PB-158/LF, wyd. 3 z dnia 29.06.2012	<0,002 mg/kg	0,11 mg/kg
Rtęć	PB-158/LF, wyd. 3 z dnia 29.06.2012	0,006 mg/kg	0,016 mg/kg
Ołów	PB-158/LF, wyd. 3 z dnia 29.06.2012	<0,100 mg/kg	<0,100 mg/kg

Badania obecności pozostałości środków ochrony roślin wykazały, zarówno dla surowca, jak i produktu, obecność pestycydu Pirymifos – Me. Dla produktu oznaczona zawartość wynosi 0,059 +/- 0,012mg/kg. Dla surowca jest ona około pięciokrotnie wyższa – wyniosła 0,250 +/- 0,051. Nie stwierdzono obecności pozostałości innych środków ochrony roślin, w ramach stosowanego zakresu badań.

Analiza próbek pod kątem oznaczenia pozostałości aflatoksyn nie wykazała obecności tych związków, w granicach oznaczalności metod, w produkcie oraz surowcu. Szczegółowe wyniki przedstawiono w Tabeli 4

Tabela 4. Wyniki oznaczeń zawartości pozostałości aflatoksyn dla próbek preparatu polifenolowego oraz surowca – wychmielin EO4.

Badanie		Zawartość	
Badany parametr	Metodyka badania w/g	Produkt	Surowiec
Aflatoksyna B1	PB-53/LF, wyd. 2 z dnia 26.05.2011	<0,80 mg/kg	<0,80 mg/kg
Suma aflatoksyn B1,B2,G1,G2	PB-53/LF, wyd. 2 z dnia 26.05.2011	<0,20 mg/kg	<0,20 mg/kg

III. 4. Ocena organoleptyczna produktu oraz parametry fizykochemiczne

Szczegóły wyników oceny organoleptycznej zebrano w Tabeli 4.

Tabela 4. Wyniki oceny organoleptycznej dla próbek preparatu polifenolowego oraz surowca – wychmielin EO4.

Badanie		Charakterystyka	
Badany parametr	Metodyka badania w/g	Produkt	Surowiec
Wygląd ogólny i konsystencja	PB-21/LF wyd. 3 z dnia 01.09.2010	Sypki proszek z widocznymi zbryleniami, trudno rozpadającymi się pod naciskiem palca, bez widocznych zanieczyszczeń.	Twarde granulki trudno rozpadające się pod naciskiem palca oraz ich duże fragmenty o nieregularnym kształcie wraz ze znaczną ilością sypkiego proszku. Produkt bez widocznych zanieczyszczeń.
Barwa		Jednolita, beżowo-żółta	Jednolita, oliwkowozielona
Zapach		Charakterystyczny dla danego asortymentu, bez obcych zapachów	Charakterystyczny dla danego asortymentu, bez obcych zapachów
Smak		Charakterystyczny dla danego asortymentu, wyczuwalny smak gorzki, bez obcych posmaków	Charakterystyczny dla danego asortymentu, wyczuwalny smak gorzki, bez obcych posmaków

W Tabeli 5 przedstawiono wyniki badań fizykochemicznych dla produktu

Tabela 5. Wyniki badań fizykochemicznych dla próbek preparatu polifenolowego

Badanie		Wynik
Zawartość substancji czynnej	Metoda Folina-Ciocalteu	26,5% +/- 0,4%
Zawartość wody	PB-16/LF, wyd. 2 z dnia 18.02.2010	6,88%
Ciężar nasypowy	PB-85/LF, wyd. 1 z dnia 01.10.2010	0,35 g/cm ³

IV. PODSUMOWANIE

1. Uzyskano preparat polifenolowy, którego tożsamość potwierdzono metodą HPLC. Otrzymana ilość produktu wyniosła 9,7kg.
2. Zawartość substancji czynnej w produkcie, wyrażona jako ogólna zawartość polifenoli wyniosła 264,96 mg/g
3. W produkcie nie stwierdzono obecności drobnoustrojów chorobotwórczych
4. Produkt zawiera śladowe ilości rtęci (6 µg/kg), prawdopodobnie pochodzące od surowca
5. Stwierdzono występowanie w produkcie pozostałości pestycydu - Pirymifos – Me w ilości 0,059 mg/kg. Ilość pestycydu w surowcu wyniosła 0,250 mg/kg.
6. Nie stwierdzono występowania pozostałości aflatoksyn
7. Sporządzono ocenę organoleptyczną produktu oraz wyznaczono podstawowe parametry fizykochemiczne

Maciej Pietras

/podpis osoby sporządzającej raport /

* KONIEC RAPORTU *

Zastrzeżenia:

Wyniki pomiarów odnoszą się wyłącznie do badanych próbek, będących przedmiotem niniejszego zlecenia.