



Аналитические возможности жидкостного хроматографа МаэстроВЭЖХ с детектором на диодной матрице и детектором фотометрическим с фиксированными длинами волн (светодиодный) на примере определения 5-гидрокси-метилфурфурала в меде в соответствии с ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидрокси-метилфурфурала»

Яшин А. Я. к. х. н., ведущий инженер отдела исследований и разработок, ООО Интерлаб, Россия, Москва

Ключевые слова

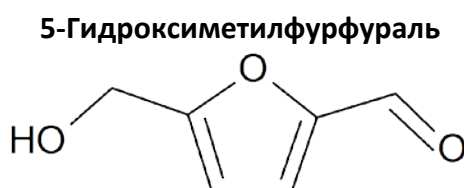
Жидкостная хроматография, 5-гидрокси-метилфурфураль, мед, детектор на диодной матрице, фотометрический детектор с фиксированными длинами волн

Резюме

Показаны аналитические возможности МаэстроВЭЖХ на примере определения 5-гидрокси-метилфурфурала. Рассчитаны СКО по высотам и площадям определяемого компонента. Определено содержание 5-гидрокси-метилфурфурала в некоторых образцах меда.

Введение

5-Гидроксиметилфурфураль (5-ГМФ) образуется при длительном хранении или в результате высокотемпературной обработки пищевых продуктов, в том числе и меда. 5-ГМФ образуется из глюкозы и фруктозы в кислых растворах сахаров. В первые месяцы хранения меда образующийся 5-ГМФ разрушается ферментами до нетоксичных веществ. При длительном хранении активность ферментов резко снижается и 5-ГМФ накапливается в значительных количествах. Содержание 5-ГМФ – это один из важнейших показателей безопасности продукта. В соответствии с ГОСТ 54644-2011 его количество в меде не должно превышать 25 мг/кг. В свежееоткаченном меде содержание 5-ГМФ обычно составляет 1-5 мг/кг продукта, а после нескольких лет хранения его количество может достигать 150-200 мг/кг. Присутствие 5-ГМФ определяют для того, чтобы по его количеству установить нарушения технологического режима (температуры и времени выдержки) при переработке, фасовке и хранении меда, выявить фальсификацию. Согласно результатам ряда экспериментальных исследований, 5-ГМФ обладает ограниченным токсическим (мутагенным) действием, что обосновывает необходимость нормирования его максимального количества в продуктах, в особенности продуктах детского питания. Фурановые производные являются ядами, большие дозы которых вызывают судороги, паралич, а малые дозы угнетают нервную систему. В конечном итоге это приводит к накоплению ядов в печени, а возможно и к нарушению биохимических процессов в организме.



Экспериментальная часть

Для анализа использовали чистые вещества фирмы Fluka:

5-гидроксиметилфурфураль (стандарт, не менее 99%);

Ацетонитрил для ВЭЖХ;

Инструменты:

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице и фотометрическим детектором с фиксированными длинами волн

Колонка Phenomenex Luna C18(2) 5 мкм 150 x4.6 мм

Подвижная фаза: А – ацетонитрил, В – бидистиллированная вода, градиент:

Время, мин	А, %	В, %
Исходный	3	97
8	3	97
8.5	100	0
12	100	0
12.5	3	97
17	3	97

Скорость потока 1 мл/мин

Длина волны 284 нм

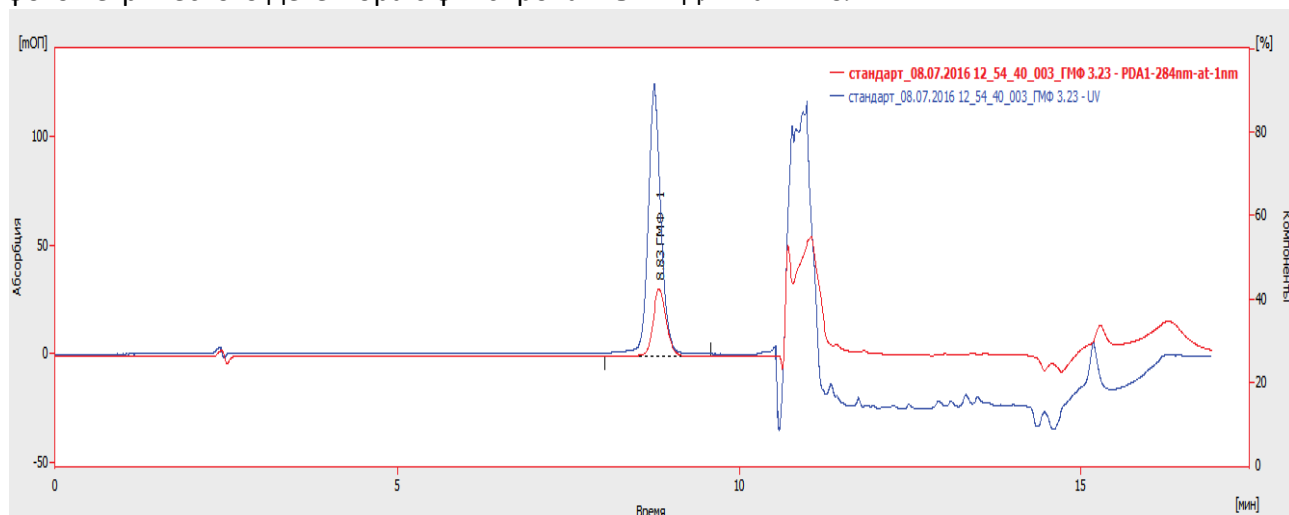
Результаты и обсуждения

С использованием детектора на диодной матрице был снят спектр 5-гидроксиметилфурфурала для выбора оптимальной длины волны



Для определения 5-гидроксиметилфурфурала в меде выбрана длина волны 284 нм

Хроматограмма стандарта 5-ГМФ с использованием детектора на диодной матрице и фотометрического детектора с фиксированными длинами волн



Благодаря инновационной проточной кювете с увеличенной длиной оптического пути до 40 мм, используемой в фотометрическом детекторе с фиксированными длинами волн, хроматографические пики имеют высоту в 4 раза выше, чем пики, полученные от обычных 10 мм проточных кювет, при той же концентрации анализируемого вещества.

Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – 5-ГМФ), фотометрический детектор с фиксированными длинами волн

Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]
Среднее значение	8.755	1579.015	123.101
СКО %	0.24	0.34	0.65
1	8.78	1579.376	124.083
2	8.727	1577.282	122.368
3	8.743	1573.647	122.667
4	8.763	1576.849	122.529
5	8.763	1587.921	123.857

Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – 5-ГМФ),
детектор на диодной матрице

Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]
Среднее значение	8.824	415.785	30.888
СКО %	0.25	0.14	0.64
1	8.793	415.678	30.656
2	8.813	415.201	30.813
3	8.827	416.149	30.781
4	8.833	416.552	31.066
5	8.853	415.345	31.125

Для определения 5-ГМФ в меде построен градуировочный график.

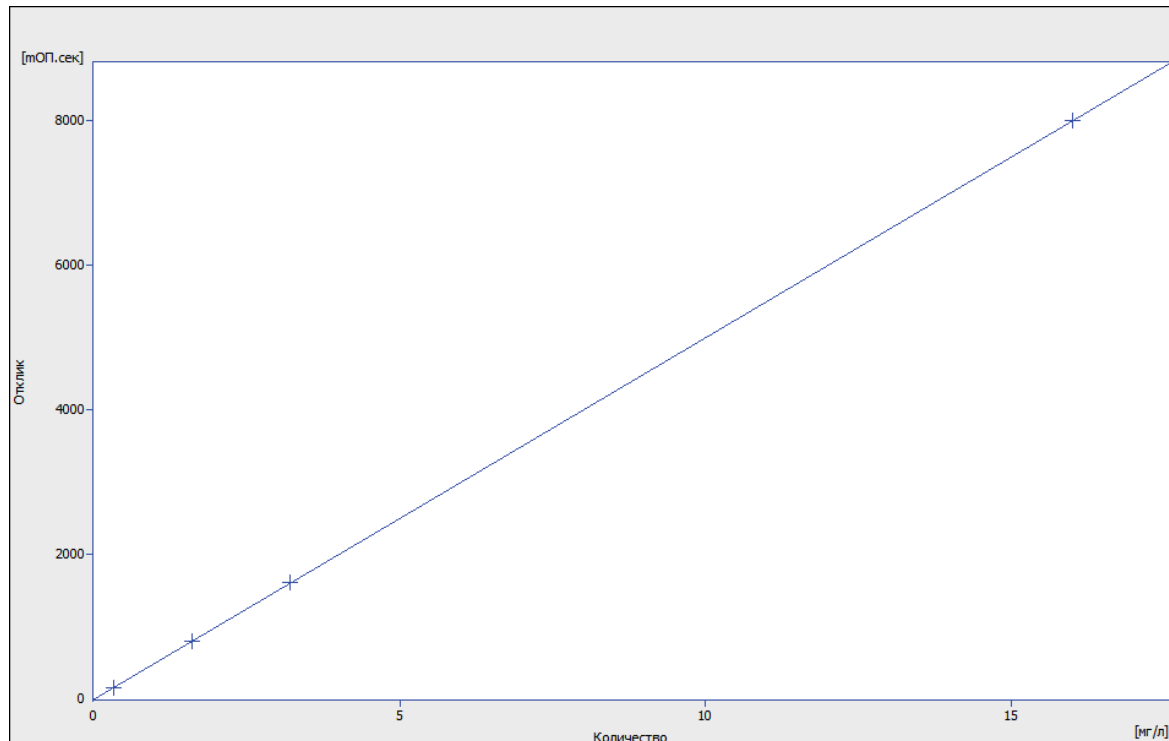
Фотометрический детектор с фиксированными длинами волн

Уравнение градуировочного графика $Y = 500.36664 * X - 5.09523$

Коэфф. корреляции 0.9999987

Расчетный предел детектирования (ПД) по 5-ГМФ составил $1 \cdot 10^{-10}$ г/мл

Отклик	Количество
153.27	0.32
790.1	1.6
1604.28	3.2
7999.70	16.0



Для определения 5-ГМФ в меде построен градуировочный график.

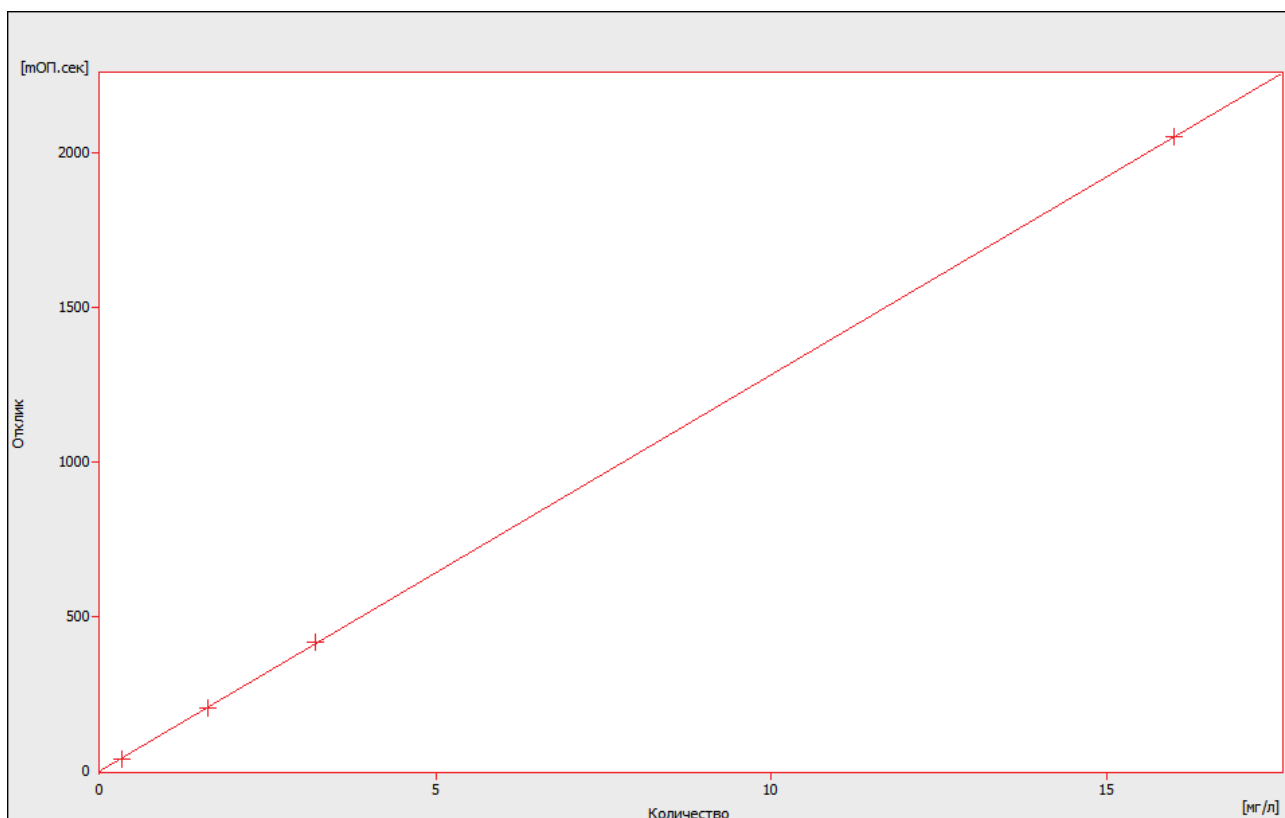
Детектор на диодной матрице

Уравнение градуировочного графика $Y = 128.23634 * X + 1.82454$

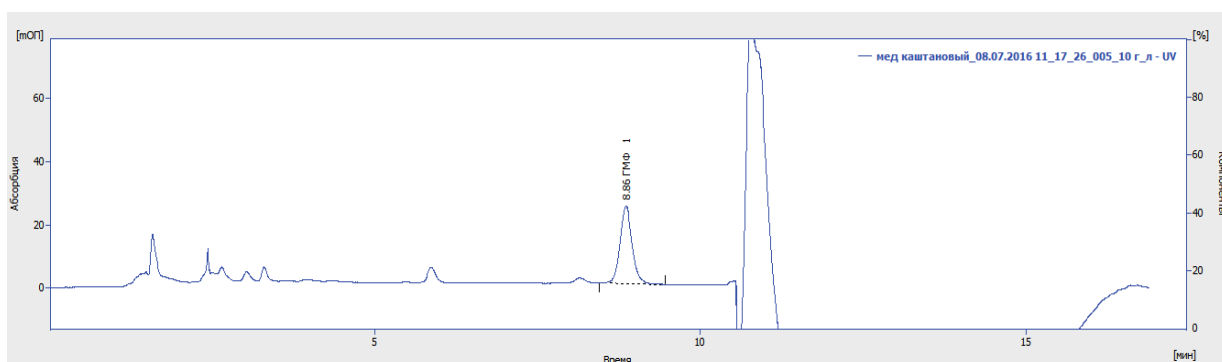
Коэфф. корреляции 0.9999908

Расчетный предел детектирования (ПД) по 5-ГМФ составил $2,4 \cdot 10^{-10}$ г/мл

Отклик	Количество
39.78	0.32
205.17	1.6
417.99	3.2
2052.68	16.0

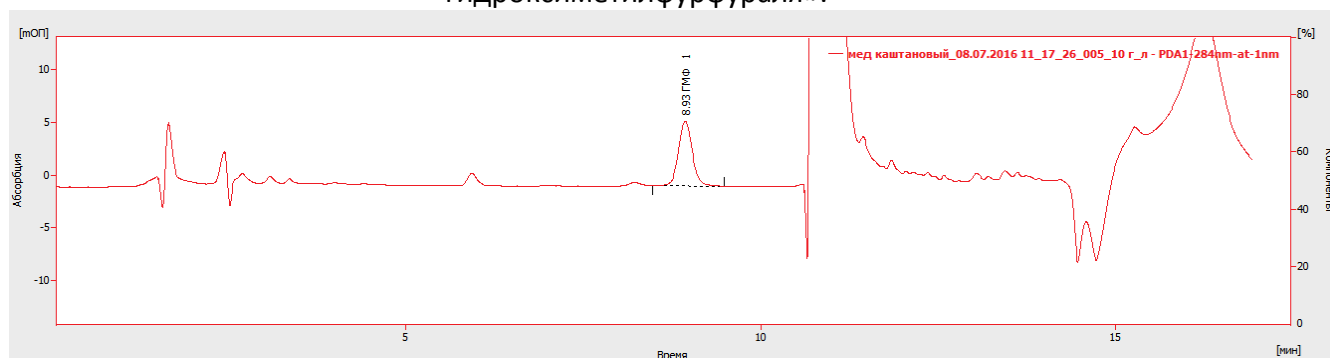


Хроматограмма каштанового меда, фотометрический детектор с фиксированными длинами волн. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала».



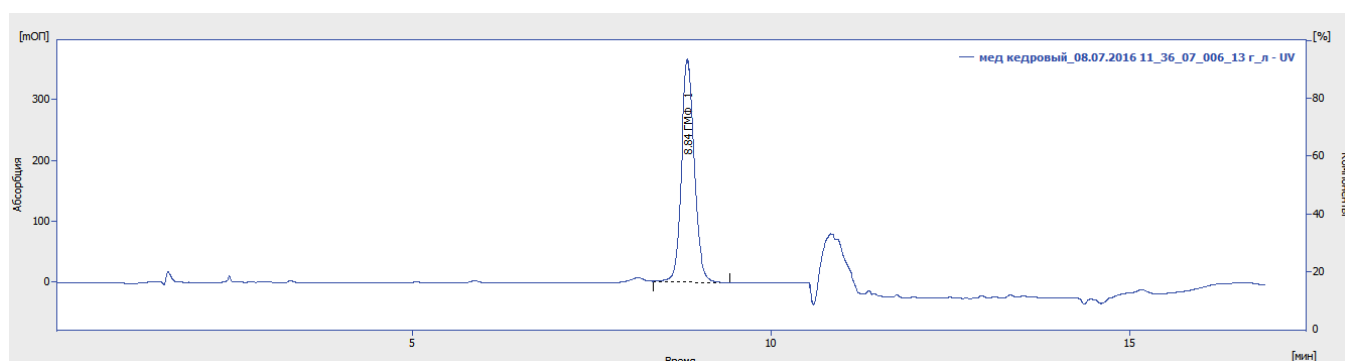
	Время уд. [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
1	8.863	315.711	24.55	0.641	ГМФ

Хроматограмма каштанового меда, детектор на диодной матрице. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфураля».



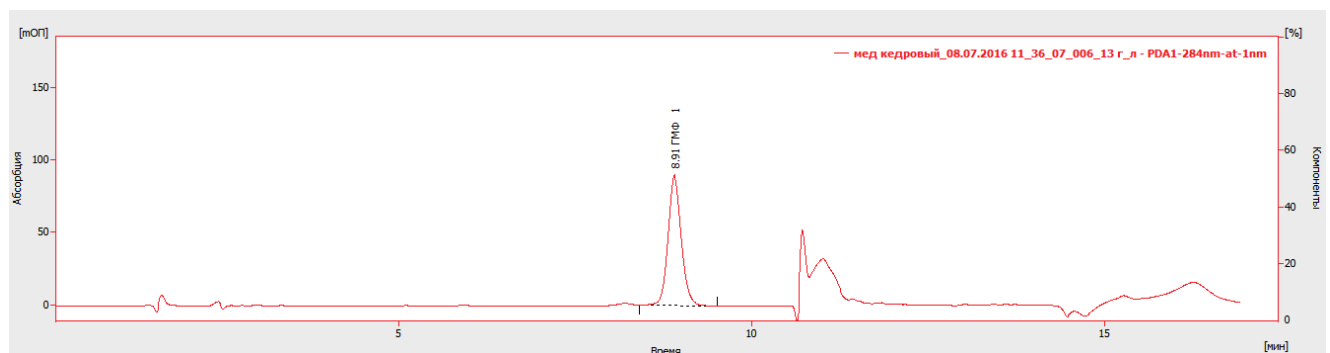
	Время уд. [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
1	8.933	82.324	6.156	0.628	ГМФ

Хроматограмма кедрового меда, фотометрический детектор с фиксированными длинами волн. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфураля».



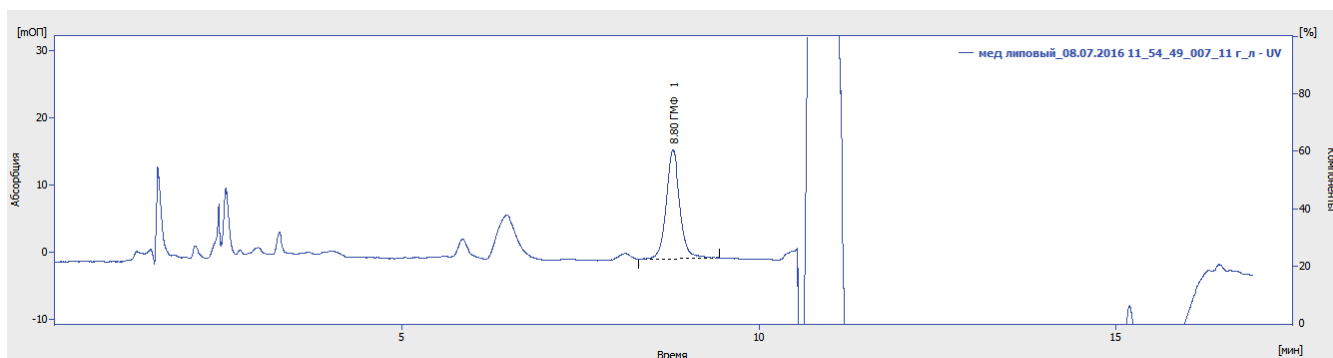
	Время уд. [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
1	8.843	4545.634	366.243	9.095	ГМФ

Хроматограмма кедрового меда, детектор на диодной матрице. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфураля».



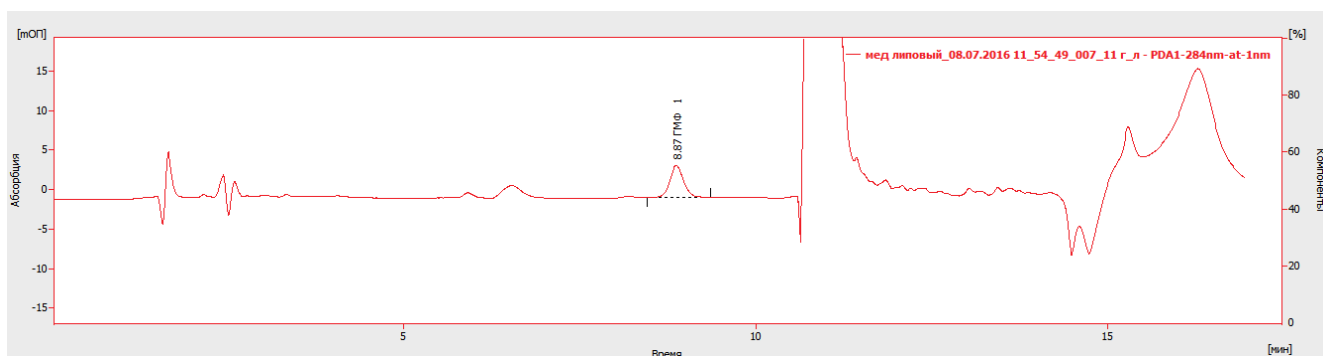
	Время уд. [мин]	Площадь [mOP.сек]	Высота [mOP]	Количество [мг/л]	Название вещества
1	8.907	1184.621	90.135	9.224	ГМФ

Хроматограмма липового меда, фотометрический детектор с фиксированными длинами волн. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала».



	Время уд. [мин]	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]	Количество [мг/л]	Название вещества
1	8.8	213.253	16.228	0.436	ГМФ

Хроматограмма липового меда, детектор на диодной матрице. Пробоподготовка проводилась согласно ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала».



	Время уд. [мин]	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]	Количество [мг/л]	Название вещества
1	8.873	55.468	4.086	0.418	ГМФ

Содержание 5-ГМФ в образцах меда рассчитывали по п.3.1.6.2 ГОСТ 31768-2012 «Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала»:

Мед	Содержание 5-ГМФ, мг/кг	
	Фотометрический детектор с фиксированными длинами волн	Детектор на диодной матрице
Каштановый мед	64,1	62,8
Кедровый мед	678,7	688,3
Липовый мед	39,6	38,0

Во всех случаях полученные данные превышают уровень в 25 мг/кг, установленный ГОСТ 54644-2011. Все три образца меда хранились 3 года при комнатной температуре в темном помещении. Таким образом, употребление такого меда в пищу не рекомендуется. Также, скорее всего, кедровый мед был изначально не качественным.

Выводы

В большинстве полученных результатов СКО по площадям пиков составляет менее 0,5%.

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице и фотометрическим детектором с фиксированными длинами волн можно рекомендовать лабораториям Роспотребнадзора и другим контролирующим организациям для определения 5-гидроксиметилфурфурала в меде, пищевых продуктах, напитках.