



Аналитические возможности жидкостного хроматографа «Маэстро ВЭЖХ» с низкотемпературным испарительным детектором светорассеяния МАЭСТРО ELSD на примере определения фруктозы, глюкозы, сахарозы во фруктовых соках.

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

Ключевые слова

Жидкостная хроматография, фруктоза, глюкоза, сахароза, фруктовые соки, низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния

Резюме

Показаны аналитические возможности Маэстро ВЭЖХ для определения фруктозы, глюкозы и сахарозы. Представлены примеры определения указанных соединений в соках.

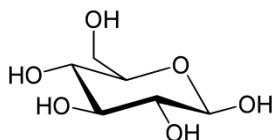
Введение

Основные сахара, содержащиеся во фруктовых соках это моносахариды – глюкоза, фруктоза и дисахарид – сахароза. Соотношение этих трех сахаров варьируется в зависимости от вида фруктового сока. Однако, в зависимости от вида фрукта, их соотношение относительно постоянно. В производстве "чистых" фруктовых соков сок должен быть извлечен механическими средствами и не должен содержать добавленный материал. Механическое извлечение и концентрирование сока обычно выполняются в стране, где фрукты выращены. Затем этот концентрат отправляют в место производства сока, где уже из него путем восстановления получают 100% сок. Концентрат сока - дорогой товар, и один из способов увеличить прибыль состоит в добавлении к соку сахарозы и воды, что удешевляет стоимость производства сока. Это разбавление – одна из форм фальсификации, не обнаружимая стандартным методом (не хроматографическим), который определяет только общий растворенный сахар, а не индивидуальные сахара.

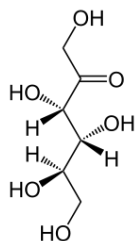
В настоящее время действует межгосударственный стандарт ГОСТ 31669-2012 «Продукция соковая. Определение сахарозы, глюкозы, фруктозы и сорбита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии», регламентирующий качество соковой продукции. Определение сахаров осуществляется с помощью ВЭЖХ с рефрактометрическим детектором.

В настоящей работе предлагается использовать низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния МАЭСТРО ELSD для определения сахаров, т.к. он имеет более низкий предел детектирования и позволяет работать в градиентном режиме.

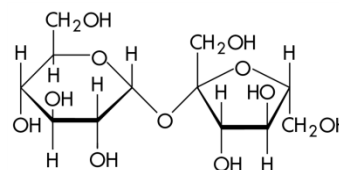
Глюкоза



Фруктоза



Сахароза



Экспериментальная часть

Для анализа использовали чистые вещества фирмы Sigma-Aldrich:

Фруктоза (стандарт, не менее 99%)

Глюкоза (стандарт, не менее 99%)

Сахароза (стандарт, не менее 99%)

Ацетонитрил для ВЭЖХ;

Инструменты:

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с низкотемпературным испарительным детектором светорассеяния МАЭСТРО ELSD

Колонка Phenomenex Luna NH2 150x4,6 мм, 5 мкм

Скорость потока 1,2 мл/мин

Подвижная фаза: А – Ацетонитрил : В – Вода, А:В (82:18)

Вводимый объем: 10 мкл

Результаты и обсуждения

Для разделения сахаров обычно применяют колонки с катионообменником, либо с сорбентом с привитой NH₂ фазой.

В данной работе использовали колонку Phenomenex Luna NH₂ 150x4,6 мм, 5 мкм. Были подобраны оптимальные условия разделения и детектирования анализируемых соединений. Ниже приведены типичные хроматограммы разделения глюкозы, фруктозы и сахарозы, а также метрологические характеристики.

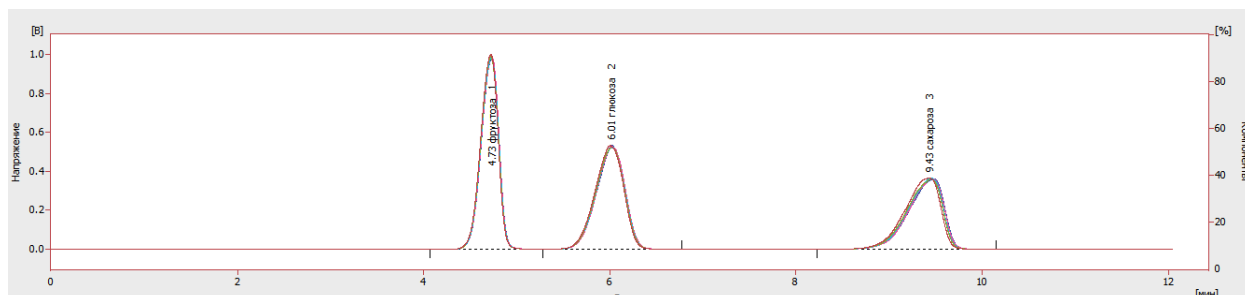


Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – Фруктоза)

Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [мВ.сек]	Высота [мВ]
Среднее значение	4.731	13044.504	987.688
СКО %	0.09	0.46	0.8
1	4.736	12984.579	979.769
2	4.736	13032.144	986.738
3	4.731	13019.934	983.125
4	4.726	13041.256	988.203
5	4.727	13144.606	1000.605

Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – Глюкоза)

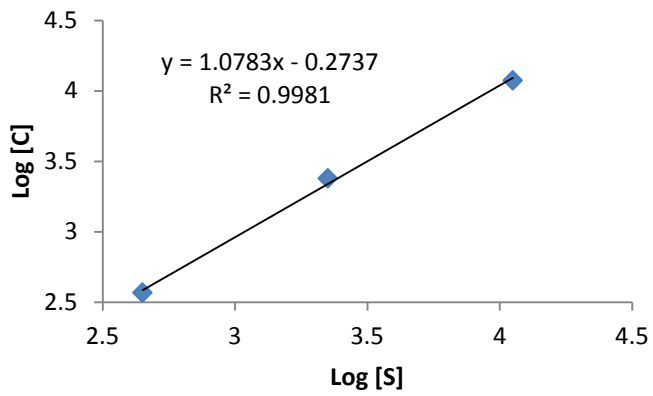
Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [мВ.сек]	Высота [мВ]
Среднее значение	6.025	11363.799	527.942
СКО %	0.14	0.53	0.88
1	6.028	11296.774	533.409
2	6.024	11398.817	527.335
3	6.036	11339.49	524.623
4	6.026	11335.46	522.533
5	6.012	11448.453	531.812

Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – Сахароза)

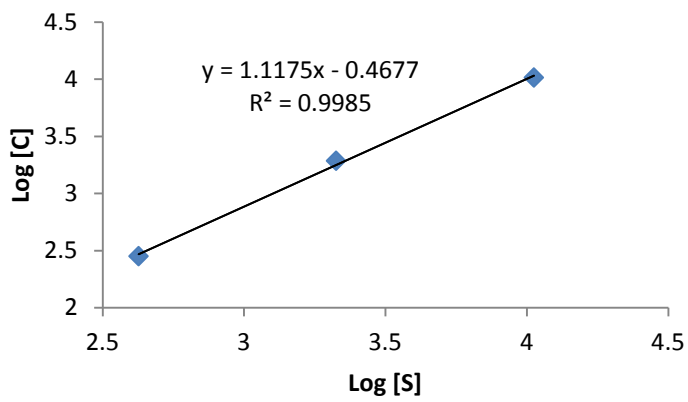
Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [мВ.сек]	Высота [мВ]
Среднее значение	9.462	9617.697	362.776
СКО %	0.19	0.88	0.6
1	9.485	9565.912	361.94
2	9.464	9548.707	362.75
3	9.463	9601.59	364.747
4	9.464	9610.274	359.63
5	9.434	9762.001	364.815

Для определения сахаров в соках были построены градуировочные графики:

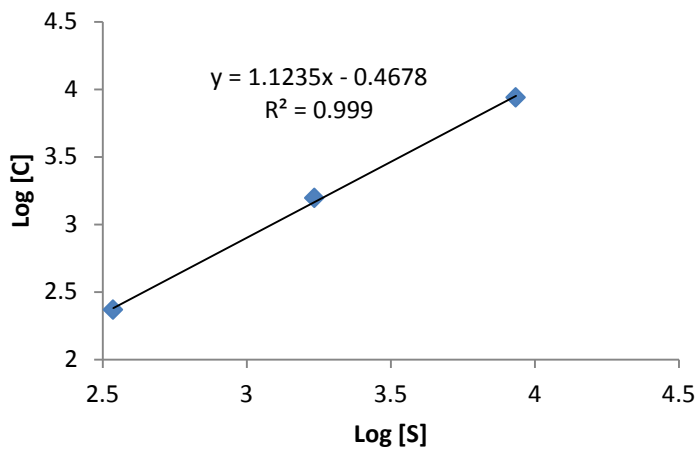
Фруктоза



Глюкоза



Сахароза

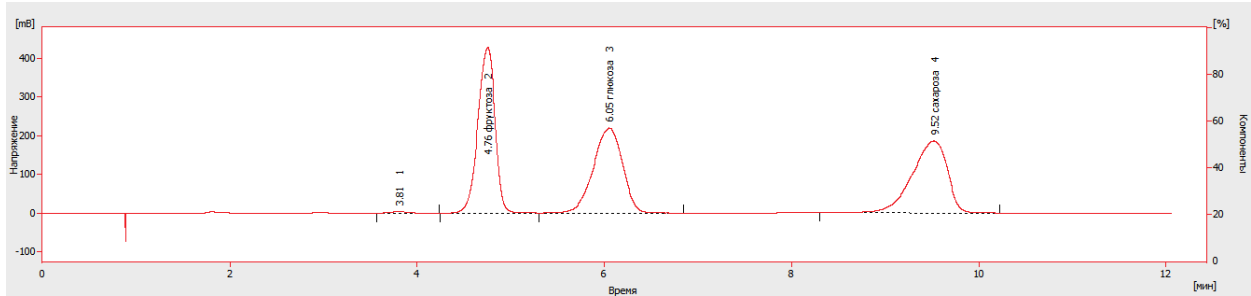


Расчетные пределы детектирования составили: для глюкозы $9,2 \cdot 10^{-8}$ г/мл, для фруктозы $8,5 \cdot 10^{-8}$ г/мл и для сахарозы $8,8 \cdot 10^{-8}$ г/мл.

Для определения массовой концентрации сахарозы, глюкозы, фруктозы сок разбавляли в 20 раз. Затем 1-2 см³ пробы отбирали в медицинский шприц и отфильтровывали в виалу через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

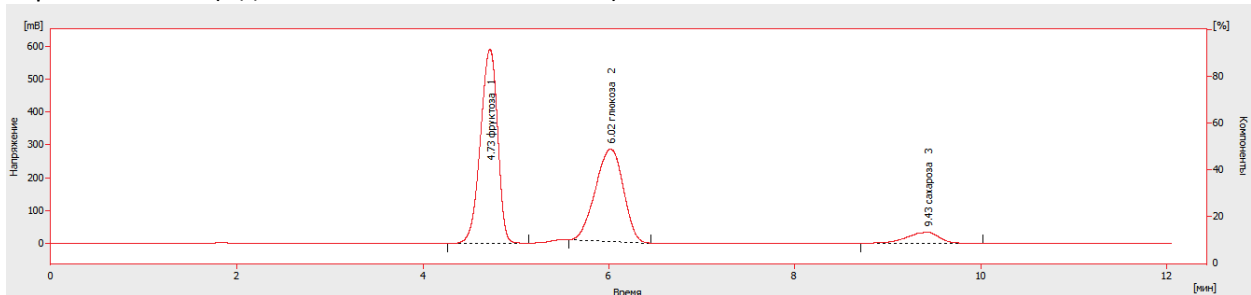
Ниже представлены хроматограммы определения сахаров в фруктовых соках

Сок апельсиновый (с содержанием сока не менее 50%)



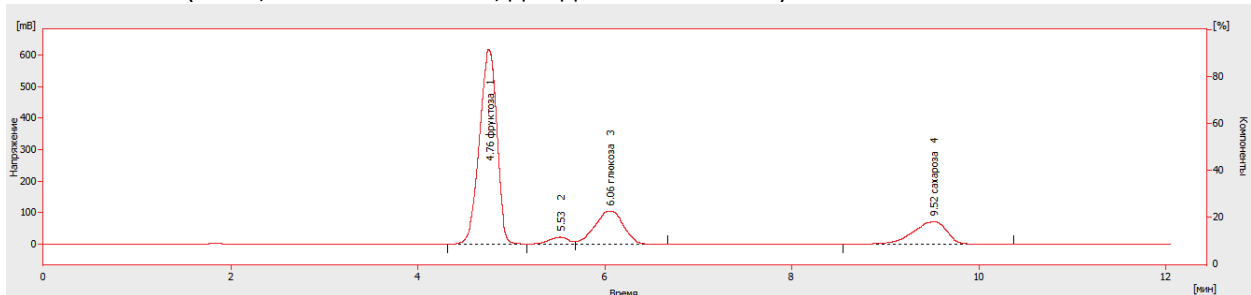
	Время уд. [мин]	Площадь [мВ.сек]	Высота [мВ]	Количество [г/л]	Название вещества
2	4.756	5452.074	429.32	52.367	фруктоза
3	6.05	4765.865	220.12	51.297	глюкоза
4	9.519	4868.477	185.899	49.949	сахароза

Персиковый сок (с добавлением яблочного сока)



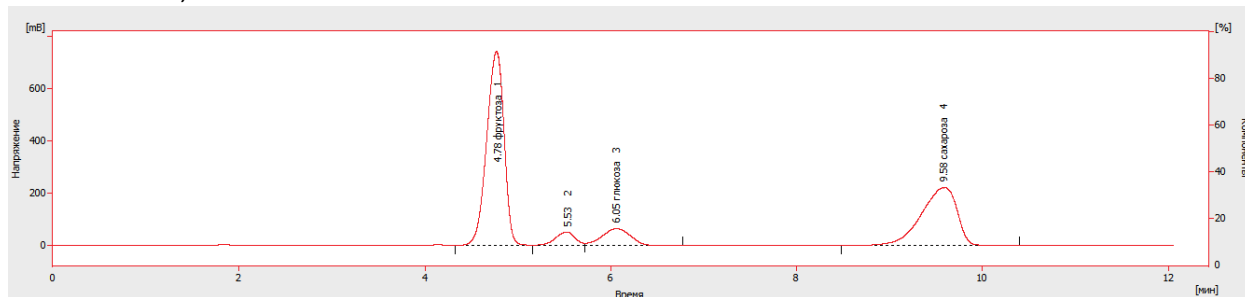
	Время уд. [мин]	Площадь [мВ.сек]	Высота [мВ]	Количество [г/л]	Название вещества
1	4.728	7547.58	590.01	70.802	фруктоза
2	6.017	5843.487	281.42	61.563	глюкоза
3	9.433	804.678	33.53	10.062	сахароза

Сок яблочный (100%, восстановленный, для детского питания)



	Время уд. [мин]	Площадь [мВ.сек]	Высота [мВ]	Количество [г/л]	Название вещества
1	4.763	8016.997	617.518	74.877	фруктоза
3	6.056	2243.569	105.423	26.139	глюкоза
4	9.518	1827.667	71.135	20.883	сахароза

Сок яблочный, свежавыжатый



	Время уд. [мин]	Площадь [mV.сек]	Высота [mV]	Количество [г/л]	Название вещества
1	4.779	9623.459	744.895	88.697	фруктоза
3	6.051	1363.419	64.311	16.738	глюкоза
4	9.578	5924.973	221.124	59.49	сахароза

Полученные результаты по содержанию сахаров в соках вполне согласуются с литературными данными [1-2]. Таким образом, все проанализированные соки являются натуральными. Сомнения вызывает лишь так называемый «персиковый сок» из-за не очень характерного содержания разных сахаров. По-видимому, он слишком сильно разбавлен яблочным соком.

Если необходимо сократить время анализа, либо подобрать такие условия элюирования, чтобы улучшить степень разделения компонентов, то есть возможность прибегнуть к градиентному элюированию. В отличие от рефрактометрического детектора, МаэстроELSD позволяет его использовать.

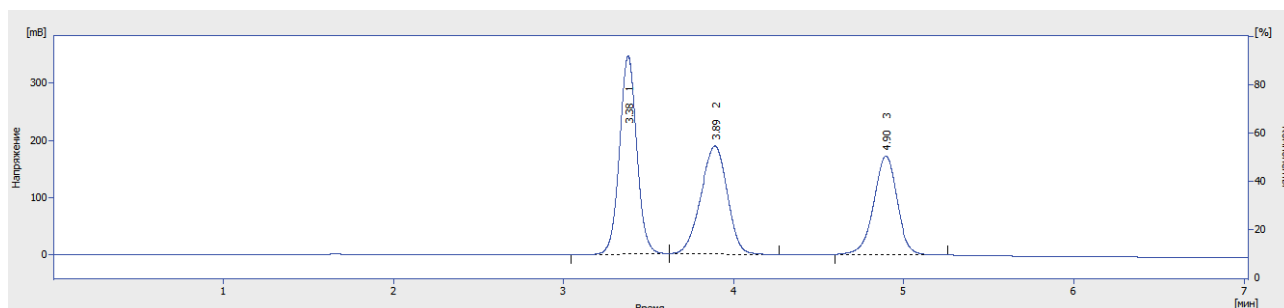
Ниже приведена хроматограмма разделения стандартной смеси сахаров с использованием градиентного элюирования:

А – ацетонитрил, В – вода

Время, мин	А, %	В, %
0	75	25
2	75	25
4	90	10
6	90	10
7	75	25
10	75	25

Вводимый объем: 2 мкл

Хроматограмма стандартной смеси сахаров



	Время уд. [мин]	Площадь [mV.сек]	Высота [mV]	Название вещества
1	3.382	2391.361	346.792	Фруктоза
2	3.892	2039.026	188.79	Глюкоза
3	4.896	1634.83	172.493	Сахароза

Выводы

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с низкотемпературным испарительным детектором светорассеяния МАЭСТРО ELSD можно рекомендовать лабораториям Роспотребнадзора и другим контролирующим организациям для контроля качества фруктовых соков в соответствии с ГОСТ 31669-2012 взамен рефрактометрического детектора, т.к. МаэстроELSD позволяет работать с градиентом и определять меньшие концентрации сахаров, что в итоге уменьшает время анализа и улучшает симметричность пиков разделяемых компонентов.

Литература

1. Chinnici F., Spinabelli U., Riponi C., Amati A. Optimization of the determination of organic acids and sugars in fruit juices by ion-exclusion liquid chromatography // Journal of Food Composition and Analysis. – 2005. – Т. 18, № 2-3. – С. 121-130.
2. Sanz M. Inositols and carbohydrates in different fresh fruit juices // Food Chemistry. – 2004. – Т. 87, № 3. – С. 325-328.

За дополнительной информацией обращайтесь в компанию Интерлаб

Московская обл., Красногорский р-н, д.
Гаврилково, ЭЖК Эдем, квартал 5, д.12
т. (495) 788-09-83, ф. (495) 755-77-61
www.interlab.ru
e-mail: interlab@interlab.ru

Екатеринбург:
т. (343) 379-57-33,
ф. (343) 379-57-34
e-mail: ural@interlab.ru

Новосибирск:
т. (913)783-12-31
e-mail: zverevav@interlab.ru

Санкт Петербург:
т/ф. (812)643-14-23
e-mail: spb@interlab.ru