



КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ по материалам XII Международной конференции «Физико-химические основы ионообменных процессов (ИОНИТЫ-2010)»

УДК 541

Определение сахаров, аминокислот методом высокоэффективной анионообменной хроматографией с амперометрическим детектором

Яшин А.Я.

НПО «Химавтоматика», Москва

Поступила в редакцию 6.05.2010 г.

Аннотация

В статье показаны новые возможности амперометрического детектора в импульсном режиме с золотым электродом для селективного и чувствительного определения сахаров и аминокислот в пищевых продуктах и биологических жидкостях

Ключевые слова: амперометрический детектор, хроматография, моносахара, аминокислоты

In article new possibilities of the amperometric detector in a pulse mode with a gold electrode for selective and sensitive determination of sugars and amino acids in foodstuff and biological liquids are shown

Keywords: amperometric detector, chromatography, monosugar, amino acid

Введение

Определение сахаров востребовано в пищевой промышленности, в медицине, фармацевтике и биотехнологии. Сахара определяют газовой, жидкостной и ионной хроматографией. Для определения методом газовой хроматографии сахара дериватизируют в летучие производные. Дериватизация - дополнительная трудоемкая операция, ухудшающая точность измерения.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии ВЭЖХ можно разделять сахара без дериватизации. Однако возникают большие проблемы с детектированием. Ранее сахара определялись рефрактометрическим детектором, однако он имеет серьезные недостатки из-за низкой чувствительности и плохой селективности. В последние годы предложены два новых детектора для определения сахаров: по светорассеиванию и амперометрический. Первый детектор дорогой, в нашей стране не производится. Амперометрический детектор с золотым электродом

в импульсном режиме позволяет селективно и с высокой чувствительностью напрямую определять сахара и аминокислоты. Аминокислоты определяются в продуктах питания, в физиологических жидкостях, в кормах для животных жидкостной хроматографией с предварительной их дериватизацией в производные, которые можно определять УФ- или флуориметрическим детекторами. Это связано с тем, что не все аминокислоты можно определять напрямую (без дериватизации) этими детекторами.

Дериватизация, в этом случае, как и в газовой хроматографии дополнительный процесс, который никогда не бывает полным. Таким образом этот процесс удорожает, удлиняет и ухудшает весь анализ, поэтому аминокислотные анализаторы – дорогие приборы. Амперометрический детектор с золотым электродом в импульсном режиме позволяет напрямую детектировать аминокислоты, использование его в составе жидкостного хроматографа позволит упростить и удешевить анализ.

Теоретическая часть

Ранее амперометрический детектор работал при постоянном потенциале. Импульсный режим расширил области применения амперометрического детектирования (АД) на новые классы соединений: моно-, дисахара, олигосахариды и полисахариды, спирты, аминокислоты.

Работа АД в импульсном режиме выполняется автоматически с помощью серии из нескольких кратковременных потенциалов. Потенциал для детектирования выбирается для конкретных смесей. Этот потенциал прикладывается в течение короткого времени. Обычно времена для детектирования варьируются в пределах 100-400 мс. После детектирования в окислительном режиме при положительном потенциале поверхность восстанавливается при отрицательном потенциале в течение 110-400 мс, прежде чем наступает новый цикл. В связи с этим в импульсном режиме амперометрический детектор работает стабильно длительное время.

Эксперимент

Детектор для определения сахаров и аминокислот разработан в НПО «Химавтоматика». На этом детекторе были выбраны оптимальные условия детектирования.

Измерения проводились на жидкостном хроматографе «ЦветЯуза-01» с амперометрическим детектором. Моносахара разделяли на колонке Dionex Carborac PA20 3x150 мм с предколонкой 3x30 мм (США), а аминокислоты на Dionex AminoPac PA1 4,6x250 мм с предколонкой 4,6x30 мм (США). В качестве элюента использовали 5, 10, 25 мМ растворы щелочи. Кран-дозатор фирмы «Риодайн» (США).

Обсуждение результатов

Содержание сахаров в некоторых пробах определяет не только пищевую ценность продуктов, но и их подлинность, в частности присутствие сахарозы (дисахарид) в значительных количествах в некоторых натуральных пищевых продуктах указывает на их фальсификацию. Обычно в таких продуктах в основном

присутствуют глюкоза и фруктоза.

Смеси моносахаров: арабиноза, галактоза, глюкоза, ксилоза и фруктоза можно разделить за 10-12 мин. С разработанной методикой были определены сахара в реальных смесях, в частности в соке и в красном вине, в меде. Большой интерес представляет определение сахаров в биологических жидкостях. Кроме моносахаров возможно определение и полисахаридов. Показана возможность определения содержания сахаров в продуктах ферментативного разложения соломы (производство биотоплива). В последние годы возрос интерес к анализу аминокислот в биотехнологии, при решении задач протеомики, в продуктах функционального и лечебного питания и пр.

Нами подобраны условия прямого определения аминокислот амперометрическим детектором в сильно щелочной среде.

На рис. 1, 2 приведены хроматограммы искусственной смеси моносахаров: арабинозы, галактозы, глюкозы, ксилозы и фруктозы и смеси аминокислот: валина и метионина. На этих рисунках видно, что за короткое время можно полностью разделить эти смеси без большого размывания пиков.

С использованием предложенной методики можно сравнительно быстро определять сахара в реальных смесях, в частности в апельсиновом соке (рис. 3), в красном вине (рис. 4) и в меде (рис.5). В этих пробах определены глюкоза и фруктоза.

Жидкостная хроматография с импульсным амперометрическим детектирование может быть применена в медицине для определения сахаров в биологических жидкостях. В частности, для определения глюкозы в сыворотки крови при разных болезнях (рис.6).

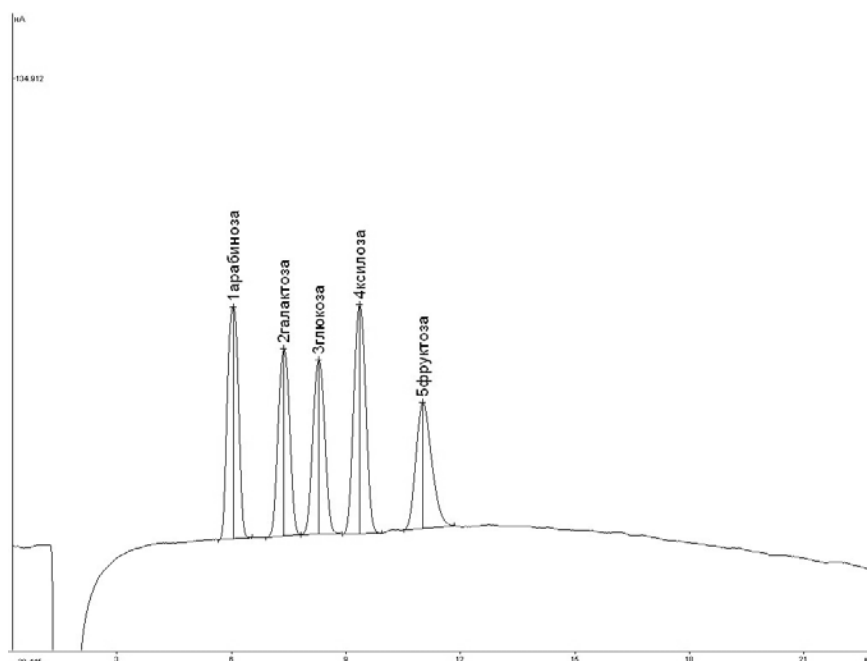


Рис. 1. Хроматограмма смеси арабинозы, галактозы, глюкозы и фруктозы по 1 мг/л. Хроматограф ЦветЯуза-01, импульсный режим, элюент 10мМ щелочь, 0,5мл/мин расход элюента, 20 мкл петля, колонка Dionex Carborac PA20 3x150 с предколонкой

В настоящее время прибор «ЦветЯуза-01» с амперометрическим детектором и золотым рабочим электродом заложен в проект для контроля производства

биотоплива из соломы механоферментативным способом (рис.7). В настоящее время это весьма актуальная проблема. Оперативный контроль сахаров позволяет проводить процесс осахаривания в оптимальном режиме.

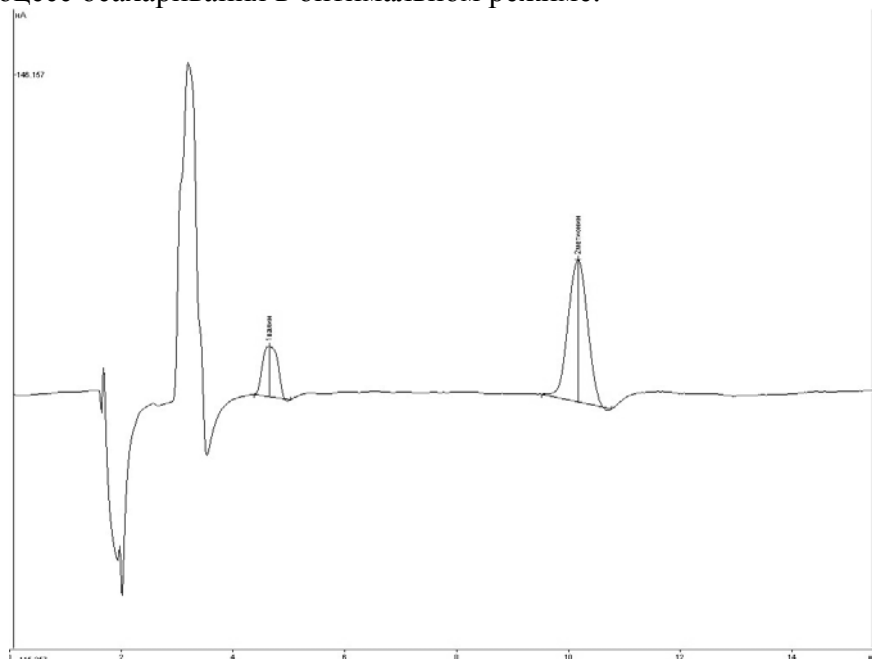


Рис. 2. Хроматограмма смеси валина и метионина по 1 мг/л. Хроматограф ЦветЯуза-01, импульсный режим, элюент 25мМ щелочь, 1мл/мин расход элюента, 20 мкл петля, колонка Dionex AminoPac PA1 с предколонкой

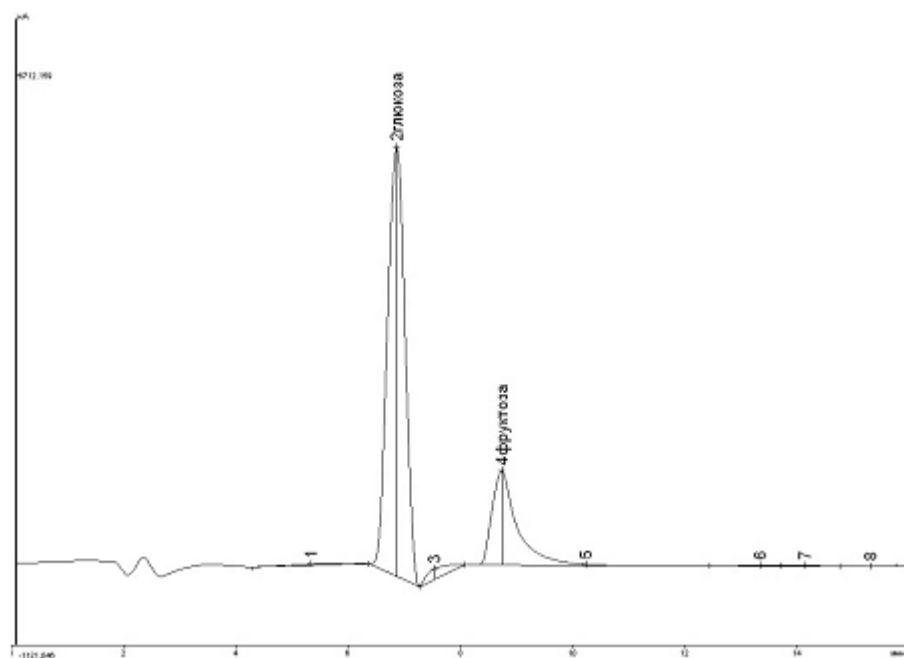


Рис. 3. Хроматограмма апельсинового сока «Я». Хроматограф ЦветЯуза-01, импульсный режим, элюент 5мМ щелочь, 0,3мл/мин расход элюента, 20 мкл петля, колонка Dionex Carborac PA20 3x150 с предколонкой

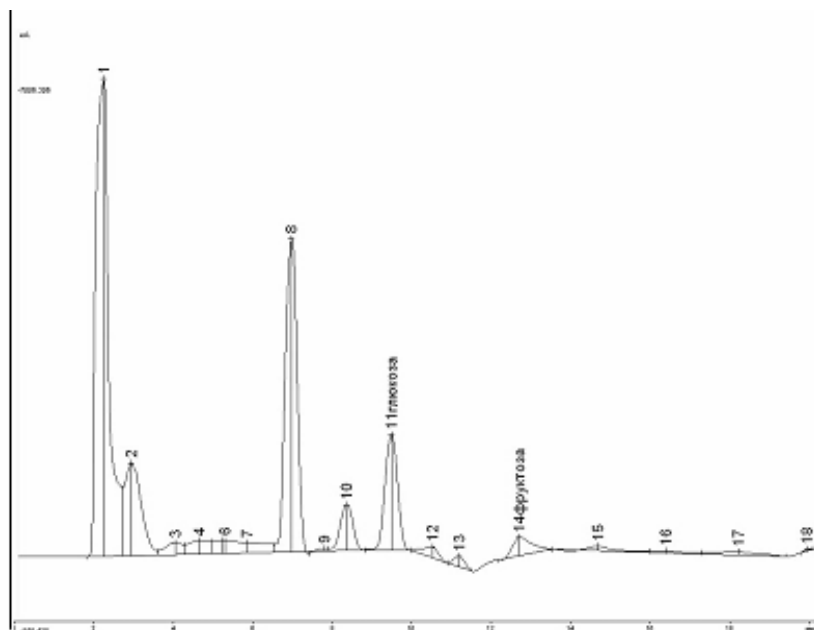


Рис. 4. Хроматограмма красного сухого вина. Хроматограф ЦветЯуза-01, импульсный режим, элюент 5мМ щелочь, 0,3мл/мин расход элюента, 20 мкл петля, колонка Dionex Carborac PA20 3x150 с предколонкой

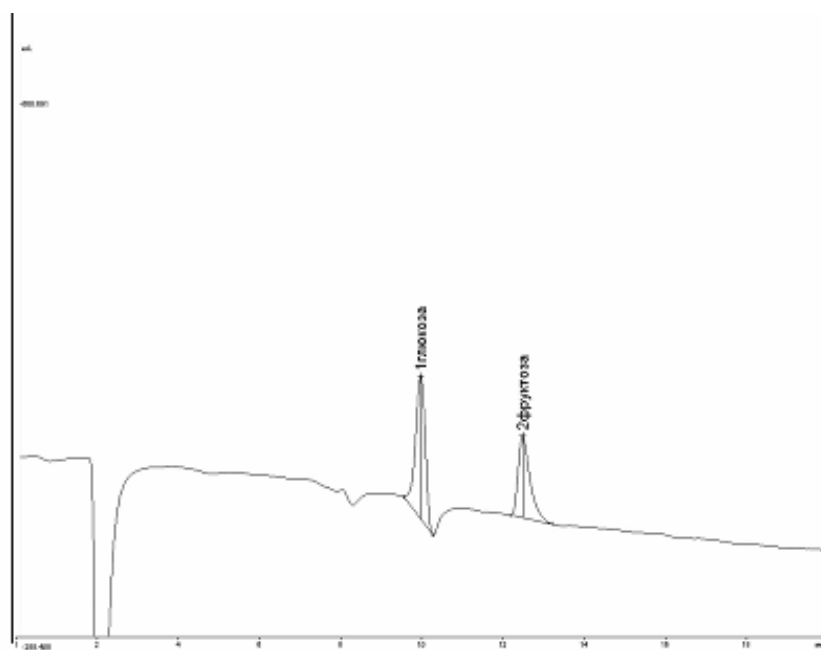


Рис. 5. Хроматограмма меда. Хроматограф ЦветЯуза-01, импульсный режим, элюент 10мМ щелочь, 0,3мл/мин расход элюента, 20 мкл петля, колонка Dionex Carborac PA20 3x150 с предколонкой

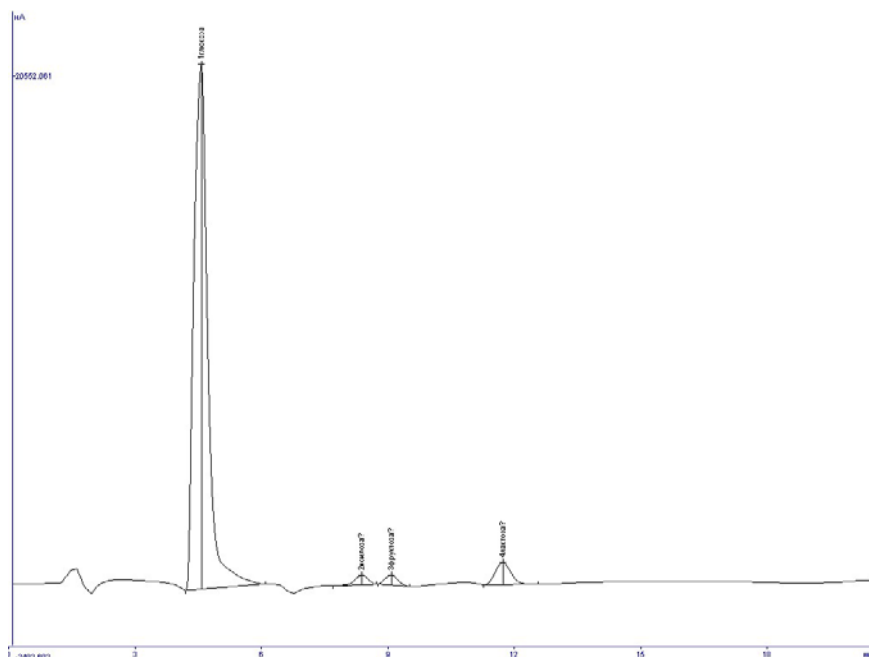


Рис. 6. Хроматограмма сыворотки крови человека после инфаркта. Хроматограф ЦветЯуза-01, импульсный режим, элюент 10мМ щелочь, 0,5мл/мин расход элюента, 20 мкл петля, колонка Dionex Carborac PA20 3x150 с предколонкой

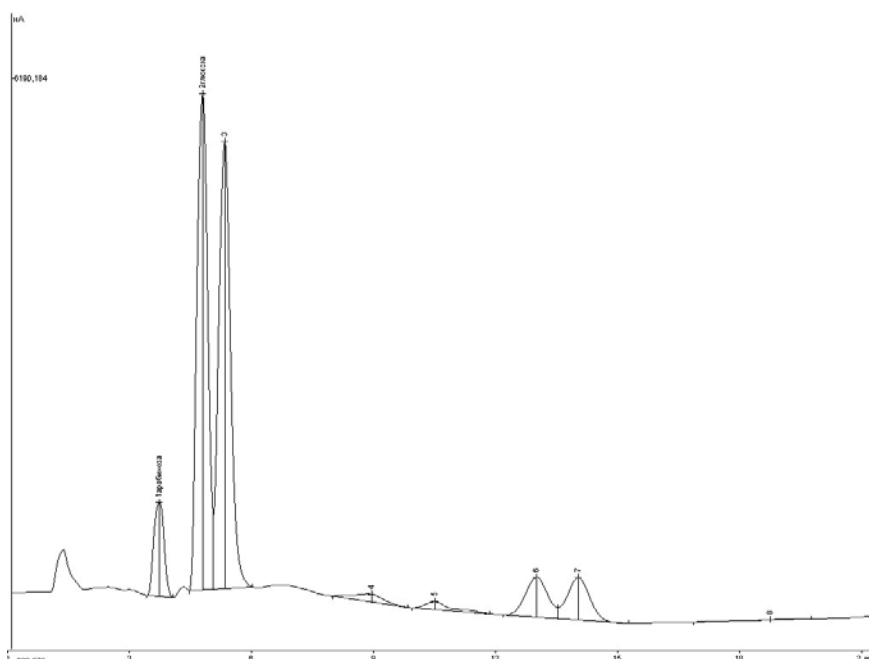


Рис. 7. Хроматограмма сброженного сула. Хроматограф ЦветЯуза-01, импульсный режим, элюент 10мМ щелочь, 0,5мл/мин расход элюента, 20 мкл петля, колонка Dionex Carborac PA20 3x150 с предколонкой

Заключение

Введение новых рабочих измерительных электродов и новых режимов работы значительно расширяет аналитические возможности амперометрического детектирования в жизненно важных областях: определения маркеров заболеваний в

медицине, контроле качества и безопасности пищевых продуктов и напитков, в биотехнологии.

Новые возможности по снижению пределов детектирования и увеличению селективности определения некоторых соединений открываются при использовании электродов, модифицированных ферментами, наночастицами металлов и углеродными нанотрубками.

Список литературы

1. Яшин А.Я. Применение ВЭЖХ с амперометрическим детектированием в жизненноважных областях: медицина, анализ пищевых продуктов, экология. В книге «Хроматография на благо России». Под ред. д.х.н. А.А.Курганова. Москва. изд-во «Граница». 2007. С. 390-420.

2. Яшин А.Я. Амперометрическое детектирование в ВЭЖХ. Новые достижения в технологии измерительных электродов// Приборы. 2009. т.106. №4. С.57-62.

3. Яшин А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках// Рос.хим.ж. (Ж.хим. об-ва им. Д.И.Менделеева). 2008. т.52. №2. С.1-6.

4. Колдыбаев С.Г., Яшин А.Я., Арсеньев Д.В. Новая хроматографическая аппаратура для контроля производства биотоплива из непищевых продуктов// Приборы. 2009. т.53. №9. С.38-41.

Яшин Александр Яковлевич – место работы: ОАО НПО «Химавтоматика», НТЦ «Хроматография», начальник отдела хроматографии НТЦ «Хроматография» НПО «Химавтоматика», Москва, тел. (499) 181-14-02

Yashin Alexander Ya. - a work place: Open Stock Society NPO "Khimavtomatika", scientific and technological centre "Chromatography", the chief of department of a chromatography of scientific and technological centre "Chromatography" Open Stock Society NPO "Khimavtomatika", Moscow, e-mail: yashinchrom@mail.ru,

УДК 541

О некоторых теоретических моделях кинетики сорбции и десорбции и их взаимосвязи

Золотарев П.П.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Хамизов Р.Х., Груздева А.Н.

Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского, Москва

Поступила в редакцию 26.07.2010 г.