

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ, УГЛЕВОДОВ И ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

А.М. Захарова, Л.А. Карцова**, И.Л. Гринштейн**

*ООО «Аналит»

199106, Санкт-Петербург, 26 линия Васильевского острова,
дом 15/2 литера А, офис 9.06

** Санкт-Петербургский государственный университет, химический факультет
198504, Санкт-Петербург, Старый Петергоф, Университетский просп., 26
za@analit-spb.ru

Поступила в редакцию 24 января 2013 г.,
после исправления – 19 февраля 2013 г.

Методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (**ОФ ВЭЖХ**) выявлено содержание органических кислот и углеводов в пробах вина, сока, молочных продуктов, биологически активных добавках. Органические кислоты (щавелевая, винная, муравьиная, яблочная, молочная, уксусная, лимонная, янтарная, фумаровая, пропионовая) определяли с использованием спектрофотометрического детектирования; углеводы (глюкоза, лактоза, мальтоза, манноза, сахароза, фруктоза) и подсластители (ксилитол, сорбитол) – с рефрактометрическим детектированием. Пределы обнаружения органических кислот в жидких пробах составили 0.05-2.8 мг/л; в твердых – $4 \cdot 10^{-5}$ - $2 \cdot 10^{-3}$ % мас. Пределы обнаружения углеводов и подсластителей в жидких пробах – 0.1-0.6 г/л, в твердых – 0.1-0.6 % мас. Анализируемые пробы или их растворы очищали от мешающих органических примесей на картриджах для твердофазной экстракции (**ТФЭ**).

Ключевые слова: ОФ ВЭЖХ, спектрофотометрическое детектирование, рефрактометрическое детектирование, органические кислоты, углеводы и подсластители, пищевые продукты, твердофазная экстракция.

Захарова Анна Михайловна – аспирант химического факультета Санкт-Петербургского государственного Университета, заместитель начальника аналитической лаборатории ООО «Аналит Продактс».

Область научных интересов – применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в экологическом анализе, контроле качества пищевых продуктов, фармацевтике.

Опубликовано 7 работ.

Карцова Людмила Алексеевна – доктор химических наук, профессор кафедры органической химии, химического факультета Санкт-Петербургского государственного Университета.

Область научных интересов – хроматографическое и электрофоретическое определение биологически активных соединений в сложных матрицах, методы концентрирования.

Общее число публикаций – 500.

Гринштейн Илья Львович – кандидат химических наук, доцент химического факультета Санкт-Петербургского государственного Университета, директор по научно-техническому развитию группы компаний «Аналит»

Область научных интересов – атомно-абсорбционный анализ минерального сырья, пищевых продуктов, биологических образцов и других сложных матриц.

Общее число публикаций – 100.

ВВЕДЕНИЕ

Органические кислоты являются важными вкусовыми компонентами в продуктах питания и,

кроме того, могут выступать в качестве индикаторов их качества или, наоборот, порчи при хранении. Многие органические кислоты (яблочная, лимонная и другие), содержащиеся в продуктах,

активизируют деятельность пищеварительных желез и тем самым способствуют лучшему усвоению пищи организмом. Поэтому их наличие является критерием пищевой ценности.

Углеводы – необходимые компоненты продуктов, имеющие важное энергетическое значение для организма человека. От соотношения этих веществ либо их изменений в составе пищевых продуктов зависят вкусовые свойства, условия и сроки хранения. Состав и концентрация углеводов в винах, соках, молочных продуктах для детского питания является важным показателем качества, поэтому их содержание нормируется в документах ГОСТ и САНПиН. Информация о компонентном углеводном составе, а также их молярном соотношении может быть использована для выявления нарушения технологии изготовления соответствующих пищевых продуктов.

Используемые в настоящее время для определения углеводов ГОСТы, описывающие методы их анализа, позволяют регистрировать в продуктах питания лишь суммарное содержание фруктозы, глюкозы и сахарозы. Последняя в процессе анализа инвертируется с образованием равных мольных количеств фруктозы и глюкозы. Содержание сахарозы и суммарного содержания глюкозы и фруктозы определяют по разнице результатов титрования пробы до инверсии и после. В молочных продуктах фотоколориметрическое определение галактозы и лактозы проводится после ферментативного гидролиза.

Для определения низких концентраций углеводов (10-100 пмоль) методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) обычно прибегают к дериватизации и использованию высокочувствительных детекторов [1-5]. Существуют также соответствующие газохроматографические методики [6]. Для этого также предварительно проводят дериватизацию анализов в силильные производные [7]. В большинстве работ при выяснении углеводного состава проводят кислотный гидролиз.

Что касается определения органических кислот, то данные об их составе являются одним из важнейших показателей подлинности винодельческой продукции. Органические кислоты определяют бактерицидные, вкусовые и ароматические свойства различных сортов вин. Информация о качественном и количественном составе органических кислот, а также их соотношении свидетельствует об особенностях технологических процессов (использование невызревшего винограда, применение яблочно-молочнокислого брожения, искусственное изменение кислотности) и является характеристикой данного вина. В виноградных винах преобладает винная кислота. Высокие концентрации лимонной кислоты, низкие концентрации винной, яблочной и молочной кислот либо отсутствие каких-либо органических кислот свидетельствуют о фальсификации вина и виноматериалов. Содержание титруемых кислот и летучих органических кислот также нормируется ГОСТами и является важнейшим показателем безопасности вин и коньяков.

Таблица 1

Пределы обнаружения органических кислот, углеводов и подсластителей

№ п/п	Органическая кислота	Предел обнаружения		Углевод или подсластитель	Предел обнаружения	
		Жидкие пробы (n = 3), мг/л	Твердые пробы (n = 3), %		Жидкие пробы (n = 3), г/л	Твердые пробы (n = 3), %
1	Щавелевая	3.0 ± 0.1	2.5·10 ⁻³ ± 0.1·10 ⁻³	Глюкоза	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01
2	Винная	3.0 ± 0.1	2.5·10 ⁻³ ± 0.1·10 ⁻³	Ксилитол	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1
3	Муравьиная	5.0 ± 0.2	4.5·10 ⁻³ ± 0.2·10 ⁻³	Лактоза	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1
4	Яблочная	7.0 ± 0.3	5.8·10 ⁻³ ± 0.3·10 ⁻³	Мальтоза	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1
5	Молочная	12 ± 0.9	9.9·10 ⁻³ ± 0.3·10 ⁻³	Манноза	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1
6	Уксусная	12 ± 0.9	9.9·10 ⁻³ ± 0.2·10 ⁻³	Сахароза	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
7	Лимонная	9.0 ± 0.8	7.5·10 ⁻³ ± 0.1·10 ⁻³	Сорбитол	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1
8	Янтарная	22 ± 1	18·10 ⁻³ ± 1·10 ⁻³	Фруктоза	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01
9	Фумаровая	0.5 ± 0.1	0.4·10 ⁻³ ± 0.1·10 ⁻³	-	-	-
10	Пропионовая	28 ± 1	23·10 ⁻³ ± 1·10 ⁻³	-	-	-

Примечание: «-» – нет данных

Стандартным методом определения летучих кислот в алкогольной продукции является их отгонка из пробы с водяным паром и последующее титрование дистиллята [8]. Титруемые кислоты определяют кислотнo-щелочным титрованием [9]. Эти методы требуют больших затрат времени в расчете на один анализ. Кроме того, в данном случае определяется лишь суммарное содержание кислот. Все описанные методики определения органических кислот и углеводов весьма трудоемки и длительны и не дают информации о полном компонентном составе пробы.

Определение органических кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на уровне низких концентраций (ppb) обычно проводят с использованием анионообменных колонок и супрессионной системы с кондуктометрическим детектированием [10]. Высокая чувствительность обеспечивается дериватизацией карбоновых кислот фенацилбромидом [11] или 9-(2-гидроксиэтил)-карбазолом [12] с последующим хроматографическим обращенно-фазовым разделением и спектрофотометрическим или флуориметрическим детектированием продуктов реакции. Одновременное определение ряда карбоновых кислот и углеводов проводят разделением по ион-эксклюзионному механизму с использованием рефрактометрического или спектрофотометрического детекторов [13].

Использование ВЭЖХ обеспечивает возможность разделения большого количества органических кислот и углеводов без применения дорогостоящего оборудования или сложной и длительной пробоподготовки [14-17].

Таким образом, создание простой экспрессной методики пробоподготовки, позволяющей проводить последующее хроматографическое определение содержания сахаров и органических кислот в пробе, весьма актуально.

Поскольку концентрация сахаров в пищевых продуктах довольно высокая, для регистрации углеводов и подсластителей мы использовали рефрактометрический детектор, обладающий средней чувствительностью, а для органических кислот, содержание которых в пищевых продуктах заметно ниже, применяли спектрофотометрический детектор. В качестве углеводов определяли моно- и дисахариды. Использование метода ОФ ВЭЖХ обеспечило одновременное обнаружение всех компонентов без проведения гидролиза.

Достигнутые пределы обнаружения органических кислот, углеводов и подсластителей приведены в табл. 1.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура. Жидкостный хроматограф Shimadzu LC-20 Prominence со спектрофотометрическим и рефрактометрическим детекторами; колонка для разделения органических кислот Grace

Organic Acid Column 4 мкм, 4,6 x 150 мм, производства фирмы Grace с соответствующей предколонкой; колонка с аминопропильной неподвижной фазой для разделения углеводов (Zorbax Carbohydrate 250x4.6 мм, 5 мкм, производства фирмы Agilent) и соответствующей предколонкой; разделение органических кислот проводили в градиентном режиме элюирования, компонент А подвижной фазы – 98 % (0.1 % фосфорная кислота, 10 мМ KH_2PO_4 , раствор в воде) + 2 % ацетонитрил, компонент Б – ацетонитрил. Разделение углеводов и подсластителей вели в изократическом режиме, подвижная фаза: (ацетонитрил : вода) = (82 : 18), объемн.

Реагенты, дополнительное оборудование.

Для градуировки прибора использовали стандартные образцы органических кислот и углеводов производства Sigma. Навески стандартных образцов растворяли в бидистиллированной воде.

Пищевые красители, дубильные вещества и другие органические компоненты, содержащиеся в пищевой продукции, загрязняют хроматографические колонки, вызывая быстрое снижение эффективности. Поэтому перед вводом в колонку их удаляли с помощью картриджа для твердофазной экстракции (ТФЭ) (Strata C18 производства фирмы Phenomenex). При этом мешающие органические примеси удерживались сорбентом, а целевые компоненты проходили вместе с растворителем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для жидких и твердых проб использовали различную пробоподготовку. Из изделий с включениями (изюм, орехи, цукаты) последние предварительно удаляли. При необходимости пробы измельчали в ступке или натирали на терке (в зависимости от консистенции и структуры продукта). Вязкие пробы перемешивали до получения однородной массы.

Общий ход пробоподготовки заключался в следующем: 3 г анализируемой пробы помещали в стеклянный стаканчик, добавляли 15-18 мл бидистиллированной воды и перемешивали на магнитной мешалке в течение 3-5 мин. Затем количественно переносили содержимое стаканчика в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали. Для удаления из пробы твердых частиц, полученный раствор центрифугировали. Затем осторожно сливали центрифугат с осадка в чистые стаканчики объемом 50 мл.

Жидкие пробы, содержащие углекислый газ, вакуумировали в колбе Бунзена в течение 1-2 мин до исчезновения пены и появления больших пузырей на поверхности. При наличии взвешенных частиц или анализе соков с мякотью, молочных продуктов пробы предварительно центрифугировали.

Проводили очистку проб от сопутствующих органических примесей на картриджах для твердофазной экстракции (Strata C18 производства фирмы Phenomenex). Для обеспечения оптимального

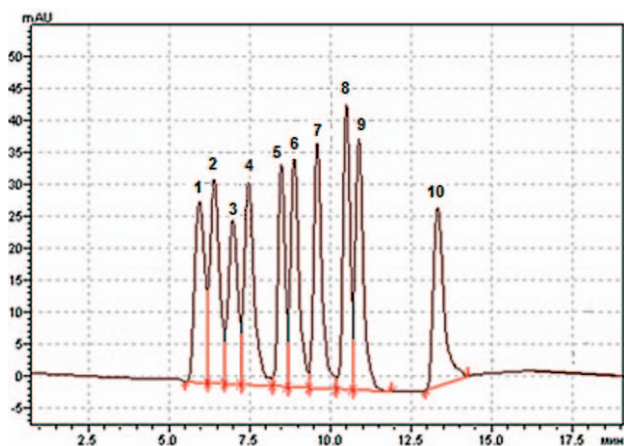


Рис. 1. Хроматограмма раствора смеси стандартных образцов щавелевой (1), винной (2), муравьиной (3), яблочной (4), молочной (5), уксусной (6), лимонной (7), янтарной (8), фумаровой (9) и пропионовой (10) кислот. Условия: подвижная фаза – компонент А подвижной фазы – 98 % (0.1 % фосфорная кислота, 10 мМ KH_2PO_4 , раствор в воде) + 2 % ацетонитрил; компонент Б – ацетонитрил, градиентный режим, ВЭЖХ хроматограф Shimadzu, спектрофотометрический детектор, колонка Grace Organic Acid 150 x 4.6 мм, 4 мкм; градиент скорости потока: 0-5 мин – 0.5 мл/мин, 5-7 мин – до 1 мл/мин, 7-20 мин – 1 мл/мин

режима работы картриджей, их последовательно промывали 2 мл этилового спирта, 4 мл бидистиллированной воды, 5 мл пробы, а затем через сорбент пропускали 3 мл пробы, которые собирали.

Для определения органических кислот отбирали 1 мл полученного раствора и разбавляли бидистиллированной водой в 2-5 раз, в зависимости от предполагаемого содержания органических

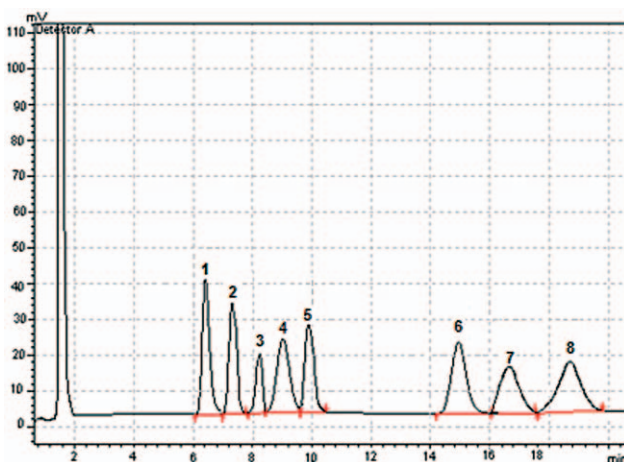


Рис. 2. Хроматограмма раствора смеси стандартных образцов фруктозы (1), ксилитола (2), маннозы (3), глюкозы (4), сорбитола (5), сахарозы (6), мальтозы (7) и лактозы (8). Условия: подвижная фаза (ацетонитрил : вода) = (82:18) объемн., ВЭЖХ хроматограф Shimadzu, рефрактометрический детектор, колонка Zorbax Carbohydrate 250 x 4.6 мм, 5 мкм, скорость потока 2 мл/мин

кислот в пробе. Определение углеводов и подсластителей проводили без разбавления.

ВЭЖХ-анализ органических кислот осуществлялся с использованием спектрофотометрического детектирования (210 нм), а углеводов и подсластителей – рефрактометрического.

После серии предварительных хроматографических экспериментов установлено, что лучшее разделение органических кислот обеспечивается при использовании градиентного режима состава подвижной фазы и скорости потока. Компонент А подвижной фазы – 98 % (0.1 % фосфорная кислота, 10 мМ KH_2PO_4 , раствор в воде) + 2 % ацетонитрил, компонент Б – ацетонитрил. Анализ начинали при содержании ацетонитрила в подвижной фазе 2 %, после 7 мин анализа содержание ацетонитрила в составе подвижной фазы увеличивали с 2 до 7 %, а затем возвращались к исходному соотношению компонентов. Скорость потока подвижной фазы до 7 мин – 0.5 мл/мин, затем – 1 мл/мин.

На рис. 1 представлена хроматограмма стандартного раствора органических кислот, полученная в этих условиях. Идентификацию проводили по временам удерживания, которые предварительно определяли путем хроматографического анализа каждой кислоты отдельно.

Оптимизированы и условия разделения определяемых углеводов и подсластителей. Поскольку растворимость сахаров в ацетонитриле ограничена, удерживание сахаров возрастает с увеличением содержания ацетонитрила в подвижной фазе. Для подбора оптимального соотношения ацетонитрил : вода в составе элюента хроматографический анализ стандартного раствора смеси сахаридов проводили в подвижных фазах с различным соотношением компонентов. Установлено, что наилучшее разделение и форма пиков достигаются при соотношении ацетонитрил : вода – 82:18 (объемн.); скорость потока 2 мл/мин.

На рис. 2 представлена соответствующая хроматограмма. Идентификацию углеводов и подсластителей проводили по временам удерживания, которые предварительно определяли путем хроматографического анализа каждого компонента отдельно.

Для подтверждения отсутствия потерь при очистке реальных проб на картридже С18 проводили также хроматографический анализ стандартных растворов органических кислот и углеводов после проведения процедуры ТФЭ.

В табл. 2 представлены результаты количественного анализа растворов с известной концентрацией компонентов после пропускания их через картридж. На основании данных, полученных на модельных растворах, был сделан вывод, что проведение очистки проб на картридже не приводит к потерям при количественном анализе.

На рис. 3 и рис. 4, в качестве примера, представлены хроматограммы пробы красного сухого

Таблица 2

Результаты количественного анализа растворов стандартных образцов с известной концентрацией после пропускания их через картриджи с сорбентом С18

Углевод или подсластитель	Массовая концентрация компонента в растворе, мг/мл		Органическая кислота	Массовая концентрация компонента в растворе, мг/мл	
	до ТФЭ	после ТФЭ (n = 3)		до ТФЭ	после ТФЭ (n = 3)
Глюкоза	0.5	0.50 ± 0.05	Щавелевая	20.0	20.3 ± 0.1
Ксилитол	2.5	2.54 ± 0.05	Винная	18.1	18.2 ± 0.2
Лактоза	2.5	2.49 ± 0.06	Муравьиная	38.0	38.1 ± 0.3
Мальтоза	2.5	2.49 ± 0.06	Яблочная	42.2	42.0 ± 0.3
Манноза	2.5	2.50 ± 0.07	Молочная	87.2	86.8 ± 0.6
Сахароза	0.5	0.50 ± 0.05	Уксусная	89.5	89.7 ± 0.5
Сорбитол	2.5	2.51 ± 0.06	Лимонная	58.9	58.4 ± 0.4
Фруктоза	0.5	0.50 ± 0.05	Янтарная	127.4	125.2 ± 0.6
-	-	-	Фумаровая	0.2	0.2 ± 0.05
-	-	-	Пропионовая	167.8	167.4 ± 0.7

Примечание: «-» – нет данных.

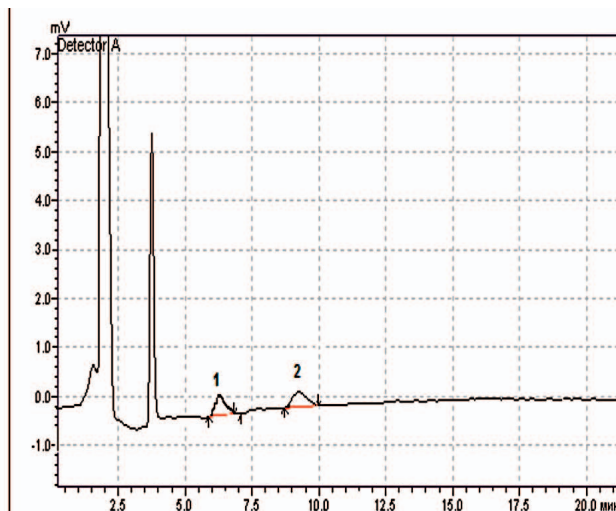
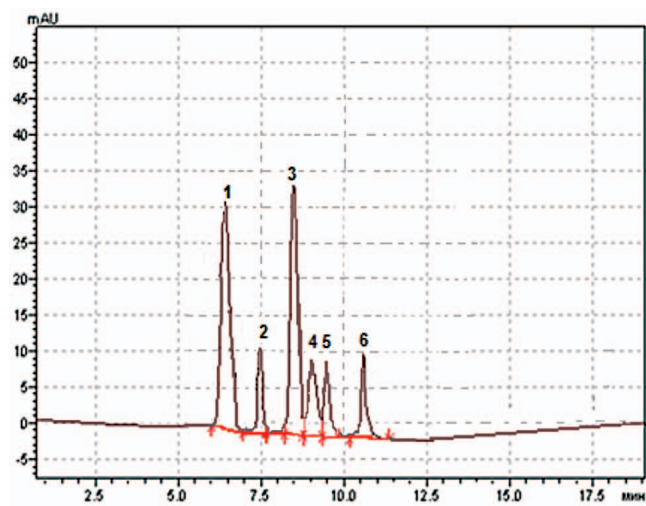


Рис. 3. Хроматограмма красного сухого вина «Каберне Совиньон», определение органических кислот: 1 – винная, 2 – яблочная, 3 – молочная, 4 – уксусная, 5 – лимонная, 6 – янтарная. Условия анализа – рис. 1
 Рис. 4. Хроматограмма красного сухого вина «Каберне Совиньон», определение углеводов: 1 – фруктоза, 2 – глюкоза. Условия анализа – рис. 2

вина при определении органических кислот и углеводов, соответственно.

Результаты количественного анализа проб сока яблочного «Добрый», красного сухого вина и биологически активной добавки «Пиковит» приведены в табл. 3-5.

Таким образом, предлагаемый подход позволяет проводить единую пробоподготовку с

последующим разделным определением органических кислот и компонентного углеводного состава пробы. Достоинством метода является простота пробоподготовки, не требующая предварительного получения производных, что позволяет повысить надежность результатов анализа.

Кроме того, предлагаемый подход обеспечивает возможность определения обсуждаемых

Таблица 3

Результаты количественного определения содержания органических кислот и углеводов в пробе яблочного сока.

Органическая кислота	Массовая концентрация в соке яблочном «Добрый» (n = 3), мг/л	Углевод	Массовая концентрация в соке яблочном «Добрый» (n = 3), г/л
Яблочная кислота	3121 ± 92	Фруктоза	35.8 ± 2.3

Таблица 4

Результаты количественного определения содержания органических кислот и углеводов в пробе красном сухом вине

Органическая кислота	Массовая концентрация в красном сухом вине «Каберне Совиньон» ($n = 3$), мг/л	Углевод	Массовая концентрация в красном сухом вине «Каберне Совиньон» ($n = 3$), г/л
Винная	1496 ± 93	Фруктоза	1.0 ± 0.1
Яблочная	912 ± 31	Глюкоза	0.7 ± 0.1
Молочная	1051 ± 83	Сахароза	< 0.1
Уксусная	574 ± 25	-	-
Лимонная	419 ± 21	-	-
Янтарная	260 ± 12	-	-

Примечание: «-» – нет данных.

Таблица 5

Результаты количественного определения содержания органических кислот и углеводов в пробе БАД «Пиковит»

Органическая кислота	Массовая доля в БАД «Пиковит» ($n = 3$), %	Углевод	Массовая доля в БАД «Пиковит» ($n = 3$), %
Лимонная кислота	2.8 ± 0.3	Глюкоза	8.5 ± 1.1
-	-	Сахароза	9.3 ± 0.5
-	-	Сорбитол	5.7 ± 0.7
-	-	Мальтоза	0.6 ± 0.1
-	-	Лактоза	1.5 ± 0.6

Примечание: «-» – нет данных

аналитов в самых разнообразных объектах, по сравнению с другими аналогичными методиками, регламентирующими их определение только в конкретной продукции (сок, напитки, вино, БАД) [18-20].

На основании полученных результатов разработаны и метрологически аттестованы во ВНИИМ им. Менделеева (Санкт-Петербург) две методики: «Методика определения органических кислот в напитках и биологически активных добавках» и «Методика определения углеводов и подсластителей в пищевых продуктах и биологически активных добавках».

ЛИТЕРАТУРА

- Determination of Carbohydrates by HPLC-ECD with a Novel Stationary Phase Prepared from Polystyrene-Based Resin and Tertiary Amines / T. Masuda et [al.] // J. Analytical Sciences. 2001. V.17. P. 895-898.
- Improving HPLC Performance with Alltech's Evaporative Light Scattering Detector (ELSD) / Application Booklet № 1. Pharmaceutical Analyses. Bulletin № 424A. 2000. 7 p.
- Highly efficient analysis of underivatized carbohydrates using monolithic-silica-based capillary hydrophilic interaction (HILIC) HPLC / T. Ikegami et [al.] // Anal. Bioanal. Chem. 2008. V.15. P 125-135.
- Corradini C., Cavazza A., Bignardi C. High-Performance Anion-Exchange Chromatography Coupled with Pulsed Electrochemical Detection as a Powerful Tool to Evaluate Carbohydrates of Food Interest: Principles and Applications // International J. of Carbohydrate Chemistry. 2012. V. 2012. P. 487-500.
- Davis M. W. A rapid modified method for compositional carbohydrate analysis of lignocellulosics by high pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC/PAD) // J. of wood chemistry and technology. 1998. V. 18, № 2. P. 235-252.
- Optimization of carbohydrate silylation for gas chromatography / R. Rojas-Escudero et [al.] // J. of Chromatography A. 2004. V. 1027. P. 117-120.
- Определение моносахаридов методом реакционной газовой хроматографии/масс-спектрометрии с удалением реагента из реакционной смеси/ И.А. Ревельский и [др.] // Масс-спектрометрия. 2009. Т. 6, № 3. С. 221-225.
- ГОСТ Р 51621-2000 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Методы определения массовой концентрации титруемых кислот. М., 2000. 6 с.
- ГОСТ Р 51654-2000 Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации летучих кислот. М., 2000. 8 с.
- Determination of organic acids in the presence of inorganic anions by ion chromatography with suppressed conductivity detection / X. Geng et [al.] // J. of Chromatography A. 2008. V.1192. P. 187-190.
- Golden K.D., Williams O.J. Amino Acid, Fatty Acid, and Carbohydrate Content of Artocarpus altilis (Breadfruit) // J. of Chromatographic Science. 2001. V. 39. P. 243-250.

12. You1 J., Zhang W., Zhang Y. Simple derivatization method for sensitive determination of fatty acids with fluorescence detection by high-performance liquid chromatography using 9-(2-hydroxyethyl)-carbazole as derivatization reagent // *Analytica Chimica Acta*. 2001. V. 436. P. 163-172.
13. Determination of Organic Acids, Sugars, Diacetyl, and Acetoin in Cheese by High-Performance Liquid Chromatography / J. Ding et [al.] // *J. Agric. Food Chem.* 2001. V. 49. P. 272-276.
14. Ergonul P.G., Nergiz C. Determination of organic acids in olive fruit by HPLC // *Czech J. Food Sci.* 2010. V. 28. P. 202-205.
15. Kordi-Krape M. Determination of Organic Acids in White Wines by RP-HPLC // *Food technol. biotechnol.* 2001. V. 39, № 2. P. 93-99.
16. Zeppa G., Conterno L., Gerbi V. Rapid determination of main constituents of packed juices by reverse phase-high performance liquid chromatography: an insight in to commercial fruit drinks // *J. Agric. Food Chem.* 2001. V. 49. P. 272-276.
17. HPLC Organic Acid Analysis in Different Citrus Juices under Reversed Phase Conditions / V. Nour et [al.] // *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* 2010. V. 38, № 1. P. 44-48.
18. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище Р 4.1.1672-2003. М.: Минздрав России, 2004. 183 с.
19. Nour V., Trandafir I., Ionica M.E. HPLC Organic Acid Analysis in Different Citrus Juices under Reversed Phase Conditions // *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* 2010. V. 38, № 1. P. 44-48.
20. An improved HPLC method for the analysis of organic acids, carbohydrates, and alcohols in grape musts and wines / M. Castellari et [al.] // *J. of Liquid Chromatography & Related Technologies.* 2000. V. 23, № 13. P. 2047-2056.

DETERMINATION OF ORGANIC ACIDS, CARBOHYDRATES AND SWEETENERS IN FOOD PRODUCTS AND BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES BY HPLC

A.M. Zaharova*, L.A. Kartsova, I.L. Greenstein***

Company "Analyte"

199106, St. Petersburg, 26 Line of Vasilevsky Island, 15/2-A, office 9.06

**St. Petersburg State University, Department of Chemistry

198504, St. Petersburg, Petergof, University Ave. 26

za@analit-spb.ru

The content of organic acids and carbohydrates in samples of wine, juice, dairy products, dietary supplements was revealed by reverse-phase high performance liquid chromatography (HPLC). Organic acids (oxalic acid, tartaric acid, formic acid, malic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid, succinic acid, fumaric acid, propionic acid) was determined by using spectrophotometric detection, carbohydrates (glucose, lactose, maltose, mannose, sucrose, fructose) and sweeteners (xylitol, sorbitol) - with refractometric detection. The limits of detection of organic acids in liquid samples were 0.05-2.8 mg / l, in solid 0.7-3.1%. The detection limits for carbohydrates and sweeteners in liquid samples were 0.1-0.6 g / l, in solid samples of 0.1-0.6 %. Samples or their solutions were purified from interfering organic impurities on solid phase extraction cartridges (SPE) C18, then were analyzed by HPLC.

Key words: RP HPLC, spectrophotometric detection, refractometric detection, organic acids, carbohydrates and sweeteners, food, solid-phase extraction.