

IZOTACHOFORÉZA

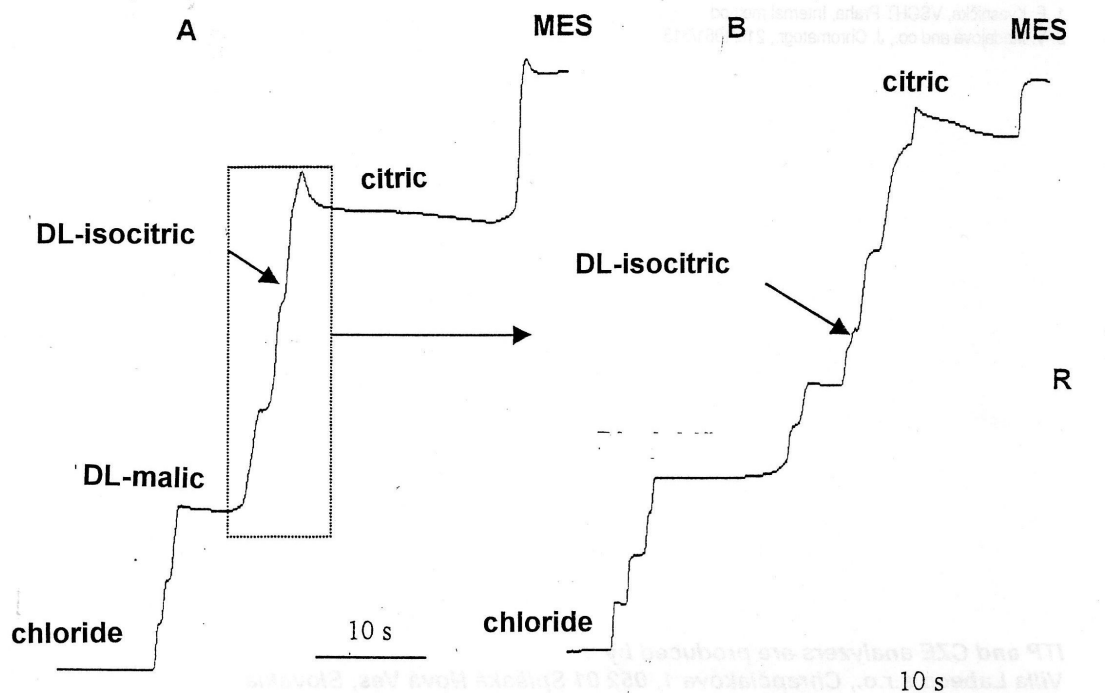
APLIKAČNÝ LIST č. 17

STANOVENIE KYSELINY CITRÓNOVEJ A IZOCITRÓNOVEJ DŽÚSOCH

CHARAKTERISTIKA:

Jedným zo sledovaných parametrov pri odhaľovaní falšovania citrusových džúsov je pomer obsahu kyseliny citrónovej a izocitrónovej. Kapilárna izotachoforéza umožňuje elegantné stanovenie týchto kyselín v jednej analýze prakticky bez predúpravy vzorky.

Pre oddelenie kyseliny citrónovej a DL-izocitrónovej, ktoré majú veľmi blízku pohyblivosť prakticky v celom pre izotachoforézu využiteľnom rozsahu pH (od 2,5 do 10), je využitá tvorba komplexu kyseliny citrónovej s vápenatými iónmi. Kyselina DL-izocitrónová tvorí výrazne slabší komplex s iónmi Ca^{++} , a teda je jej pohyblivosť menej ovplyvnená. Po pridaní Ca^{++} iónov do vodiaceho elektrolytu je efektívna pohyblivosť kyseliny citrónovej natoľko znížená, že je možné obe kyseliny od seba odseparovať. Za daných podmienok je možné stanoviť tiež kyselinu jablčnú.



Obr. 1 : Izotachoforeogram vzorky citrusového džúsu (25x zriedený)

A - záznam z predseparačnej kolóny (PK 0,8/90mm)

B - záznam z analytickej kolóny (AK 0,3/90mm)

R - signál z vodivostného detektora

Podmienky: vodiaci elektrolyt :

6 mM HCl + 2 mM CaCl_2 + 0,05% hydroxypropylcelulóza

zakončujúci elektrolyt :

5 mM MES + 1 mM BTP

V=10 μl ; pomocou mikrostriekačky Hamilton; I_1 =250 μA ; I_2 =50 μA pri detekcii znížený na 25 μA

Úprava vzorky:

Do 50 ml odmernej banky sú napipetované 2 ml vzorky džúsu a banka je doplnená demineralizovanou vodou po značku. Po premiešaní a filtrovaní cez papierový filter je filtrát priamo analyzovaný

Výsledky

Opakovateľnosť metódy (v reálnej vzorke opakované všetky kroky 6-krát) vyjadrená ako relatívna smerodatná odchýlka je pre kyselinu citrónovú 1,1% (na koncentračnej úrovni 9 g/l) a pre DL-izocitrónovú 2,3% (na koncentračnej úrovni 110 mg/l)

Výťažnosť kyseliny citrónovej bola 96 až 103% (pre koncentráciu 2 resp. 8 g/l) a pre DL-citrónovú 89 až 94 % (pre koncentráciu 10 až 40 mg/l)

Detekčný limit pre kyselinu citrónovú v predseparačnej kolóne je 80 ng (pre 25-násobné riedenie vzorky odpovedá 0,05 g/l) a pre DL-izocitrónovú 2 ng (pre 25-násobné zriedenie vzorky odpovedá 1,5 mg/l).

Literatúra :

1. F. Kvasnička, VŠCHT, Praha, Interná metodika
2. V. Madajová a kol., J.Chromatogr., 216/1981/313