

*Anna Lebedzińska, Jakub Czaja, Karolina Brodowska,  
Anna Woźniak, Piotr Szefer*

## OCENA ZAWARTOŚCI CUKRÓW PROSTYCH I SACHAROZY W SOKACH OWOCOWYCH Z WYKORZYSTANIEM HPLC\*

Katedra i Zakład Bromatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego  
Kierownik: prof. dr hab. P. Szefer

*Oznaczono zawartość cukrów prostych w sokach owocowych. Analizę przeprowadzono z wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją wyładowań koronowych (Corona CAD, ESA). Wykazano różnice pomiędzy zawartością fruktozy, glukozy i sacharozy w analizowanych sokach owocowych.*

Hasła kluczowe: fruktoza, glukoza, sacharoza, soki owocowe, HPLC.  
Key words: fructose, glucose, sucrose, fruit juices, HPLC.

Znajomość składu surowców, a także wiedza o zmianach w zawartości składników odżywczych, jakim ulegają one podczas zastosowanych procesów technologicznych pozwala określić wartość odżywczą żywności. Wiedza w tym zakresie staje się coraz bardziej istotna, zwłaszcza w aspekcie zapobiegania chorobom powstającym w wyniku niewłaściwego żywienia.

W Polsce aktualnie są dostępne produkty spożywcze słodzone sacharozą i syropami skrobiowymi lub kukurydzianymi, a oznakowanie tych produktów nie zawiera czytelnej informacji dla konsumenta na temat jakości i ilości poszczególnych węglowodanów. W diecie Polaka, podobnie jak w dietach mieszkańców większości państw UE, odnotowano zbyt wysoki udział energii pochodzącej z cukrów rafinowanych, cukrów dodanych. W aktualnie dostępnych w Polsce „Tabelach składu i wartości odżywczej żywności” brakuje informacji dotyczących zawartości poszczególnych cukrów prostych w produktach spożywczych (1).

Rozwój nauki o żywności i związane z nim nowe technologie wytwarzania żywności, pojawienie się na rynku zupełnie nowych produktów spożywczych, wzbogacanie żywności w wybrane składniki odżywcze - to główne czynniki generujące rozwój nowoczesnych metod instrumentalnych stosowanych w analizie żywności (2-9). Najpowszechniej stosowaną obecnie techniką jest HPLC (2, 10, 11). Zastosowanie nowej generacji kolumn, nowe typy detektorów, nowych oprogramowań oraz możliwość pracy on-line z innymi urządzeniami analitycznymi, sprawiają, że jej znaczenie w analizie żywności ustawicznie wzrasta. Nowoczesny detektor wyładowań koronowych (Corona) jest wykorzystywany do równoczesnej identyfikacji wielu analitów o różnej budowie chemicznej (12-15).

Celem pracy było opracowanie prostej metody analitycznej i ocena zawartości fruktozy, glukozy i sacharozy w sokach owocowych.

\* Praca realizowana w ramach grantu N N404 270840.

## MATERIAŁ I METODYKA

Oznaczono zawartość fruktozy, glukozy i sacharozy w sokach owocowych (pięć rodzajów soków jabłkowych i pięć różnych soków pomarańczowych) zakupionych w gdańskiej sieci placówek handlowych oraz w sokach wyciśniętych z różnych owoców (dziesięć rodzajów).

Badane próbki soków ze świeżych owoców przygotowywano bezpośrednio przed oznaczeniem. W celu przygotowania próbek wykonano odpowiednie rozcieńczenia z wykorzystaniem zestawu automatycznych pipet i kolb miarowych oraz wody oczyszczonej o niskim stopniu przewodności. Uzyskane roztwory wirowano w ultrawirówce MPW-55, a roztwór do dalszych badań pobierano z nad supernatantu. Pobierano 500  $\mu$ l roztworu, do którego dodawano wzorca wewnętrznego (100  $\mu$ l inozytolu o stężeniu 10 mg/100 ml) i uzupełniano wodą oczyszczoną do 1000  $\mu$ l.

Opracowano metodę oznaczania fruktozy, glukozy i sacharozy w sokach owocowych przy zastosowaniu techniki HPLC z detekcją koronową. Analizę chromatograficzną prowadzono w temperaturze 30°C stosując chromatograf UltiMate 3000 firmy Dionex-ESA, składający się z 4 kanałowej pompy HPLC i automatycznego podajnika próbek z osobnym drenażem. Zawartość poszczególnych cukrów oznaczono przy użyciu detektora wyładowań koronowych (Corona CAD, ESA).

Optymalne warunki chromatograficzne uzyskano stosując izokratyczny rozdział przy zastosowaniu kolumny chromatograficznej Asahipak NH2P-50 o wymiarach 250 mm x 4,6 mm, przy prędkości przepływu fazy ruchomej 1,0 ml/min. Fazę ruchomą stanowił acetonitryl: 20 mM bufor amonowy (70:30, v/v).

Dokładność metody sprawdzono poprzez oznaczenie zawartości fruktozy, glukozy i sacharozy we wzbogacanych próbkach soków owocowych w zakresie stężeń krzywej kalibracji. Uzyskano satysfakcjonującą dokładność i precyzję oznaczeń, które zostały przedstawione w tabeli I.

Tabela I. Dokładność i precyzja zastosowanej metody

Table I. Accuracy and precision in the determination of carbohydrates in juices

Rodzaj cukru	Ilość dodana	Sok jabłkowy			Sok z mandarynki		
		Sredni odzysk (%)	Błąd względny (%)	RSD (%)	Sredni odzysk (%)	Błąd względny (%)	RSD (%)
Fruktoza	1 g/100 ml	93,3	-6,7	9,07	108,8	+8,8	7,20
	2 g/100 ml	96,6	-3,4	6,02	93,6	-6,4	7,76
	5 g/100 ml	98,4	-1,6	8,96	99,4	-0,6	5,88
Glukoza	1 g/100 ml	103	+3	5,70	100,5	+0,5	8,96
	2 g/100 ml	106	+6	2,98	102	+2,0	4,99
	5 g/100 ml	104	+4	4,67	99,7	-0,3	3,33
Sacharoza	1 g/100 ml	89,8	-10,2	8,93	96,5	-3,5	16,37
	2 g/100 ml	89	-11	2,67	108,5	+8,5	2,40
	5 g/100 ml	92,3	-7,7	6,26	95	-5	7,03

## WYNIKI

Zawartość cukrów prostych w badanych sokach przedstawiono w tabelach II i III. Badane soki charakteryzowały się zarówno zróżnicowaną zawartością poszczególnych cukrów, jak i łączną ich zawartością. Zawartość oznaczonych cukrów w analizowanych sokach komercyjnych była zróżnicowana, wynosiła od 7,61 do 10,83 g. Najwyższą zawartość cukrów ogółem oznaczono w sokach jabłkowych, osiągających wartość 10,93 g w 100 g soku. Soki jabłkowe komercyjne w 100 g zawierały od 5,38 do 7,07 g fruktozy, natomiast badane soki pomarańczowe od 3,16 do 3,31 g (tab. III).

Tabela II. Zawartość cukrów prostych w świeżych sokach  
Table II . The content of simple sugars in the examined fresh juices

Nazwa soku	Liczba próbek	Zawartość [g/100 ml]			
		Fruktoza	Glukoza	Sacharoza	Łączna zawartość
Mandarynkowy	3	1,33 ± 0,05 (1,27 - 1,40)	1,22 ± 0,14 (1,06 - 1,46)	5,95 ± 0,28 (5,54 - 6,44)	8,31 ± 0,21 (8,10 - 8,59)
Grejpfrut czerwony	3	2,79 ± 0,08 (2,68 - 2,91)	2,88 ± 0,15 (2,75 - 3,10)	2,42 ± 0,11 (2,30 - 2,54)	8,10 ± 0,33 (7,73 - 8,56)
Grejpfrut czerwony butelkowany	3	3,27 ± 0,04 (3,22 - 3,30)	3,39 ± 0,06 (3,34 - 3,46)	1,69 ± 0,22 (1,43 - 1,83)	8,36 ± 0,30 (8,02 - 8,60)
Grejpfrut żółty	3	2,49 ± 0,05 (2,43 - 2,56)	2,42 ± 0,08 (2,35 - 2,55)	2,73 ± 0,06 (2,64 - 2,80)	7,66 ± 0,15 (7,51 - 7,90)
Pomarańczowy	3	1,82 ± 0,20 (1,59 - 1,99)	1,56 ± 0,20 (1,39 - 1,86)	3,14 ± 0,13 (2,91 - 3,31)	6,51 ± 0,38 (5,94 - 7,00)
Cytrynowy	3	0,40 ± 0,05 (0,35 - 0,47)	0,44 ± 0,07 (0,35 - 0,55)	0,45 ± 0,06 (0,36 - 0,54)	1,30 ± 0,14 (1,08 - 1,46)
Limonkowy	3	0,92 ± 0,05 (0,86 - 0,98)	0,87 ± 0,04 (0,83 - 0,93)	0,37 ± 0,02 (0,35 - 0,39)	2,17 ± 0,12 (2,08 - 2,31)
Kiwi	3	3,11 ± 0,27 (2,90 - 3,49)	3,36 ± 0,26 (2,97 - 3,63)	0,95 ± 0,12 (0,76 - 1,04)	7,43 ± 0,58 (6,86 - 8,14)
Jabłkowy	3	5,13 ± 0,24 (4,81 - 5,35)	2,49 ± 0,05 (2,46-2,58)	2,97 ± 0,07 (2,85 - 3,04)	10,60 ± 0,34 (10,13 - 10,93)
Gruszkowy	3	4,88 ± 0,11 (4,81 - 5,01)	1,22 ± 0,11 (1,11 - 1,33)	0,57 ± 0,09 (0,46 - 0,66)	6,68 ± 0,27 (6,39 - 6,93)

Zawartość fruktozy w sokach wyciskanych z jabłek i pomarańczy była niższa w porównaniu z zawartością tych cukrów w sokach komercyjnych i wynosiła: w 100 g soku z pomarańczy od 1,59 do 1,99 g i od 4,81 do 5,36 g /100 g soku z jabłek (tab. II).

Badania dotyczące zawartości składników odżywczych w artykułach spożywczych są bardzo ważne dla konsumentów, którzy przy wyborze produktu spożywczego powinni kierować się nie tylko walorami smakowymi, ale także zdrowotnymi, a tym samym ich odpowiednim składem, również poszczególnych cukrów.

Tabela III. Zawartość cukrów prostych w sokach jabłkowych i pomarańczowych  
Table III. The content of sugars in the examined apple and orange juices

Nazwa soku	Liczba próbek	Zawartość [g/100 ml]			
		Fruktoza	Glukoza	Sacharoza	Łączna zawartość
Tymbark jabłkowy	3	5,71 ± 0,21 (5,38 - 5,96)	1,75 ± 0,16 (1,50 - 1,93)	1,15 ± 0,09 (1,02 - 1,27)	8,68 ± 0,27 (8,36 - 9,04)
Cappy jabłkowy	3	6,06 ± 0,23 (5,87 - 6,44)	1,92 ± 0,15 (1,73 - 2,14)	1,33 ± 0,14 (1,20 - 1,57)	9,33 ± 0,32 (9,03 - 9,74)
Toma jabłkowy	3	6,25 ± 0,13 (6,06 - 6,37)	2,36 ± 0,14 (2,21 - 2,64)	0,87 ± 0,09 (0,69 - 0,99)	9,49 ± 0,22 (9,27 - 9,87)
Fortuna jabłkowy	3	6,06 ± 0,13 (5,87 - 6,30)	1,94 ± 0,08 (1,79 - 2,04)	1,05 ± 0,09 (0,95 - 1,24)	9,05 ± 0,21 (8,76 - 9,34)
Hortex jabłkowy	3	6,63 ± 0,33 (6,19 - 7,07)	2,08 ± 0,04 (2,03 - 2,17)	1,44 ± 0,18 (1,18 - 1,65)	10,16 ± 0,53 (9,41 - 10,86)
Cappy pomarańczowy	3	3,13 ± 0,09 (3,02 - 3,25)	3,07 ± 0,07 (2,97 - 3,18)	4,37 ± 0,07 (4,31 - 4,49)	10,58 ± 0,19 (10,43 - 10,83)
Toma pomarańczowy	3	2,68 ± 0,04 (2,64 - 2,79)	2,57 ± 0,11 (2,37 - 2,71)	2,86 ± 0,15 (2,58 - 3,03)	8,12 ± 0,23 (7,61 - 8,32)
Fortuna pomarańczowy	3	2,67 ± 0,06 (2,60 - 2,76)	2,40 ± 0,08 (2,31 - 2,48)	3,41 ± 0,05 (3,36 - 3,48)	8,49 ± 0,13 (8,32 - 8,59)
Tymbark pomarańczowy	3	2,22 ± 0,08 (2,13 - 2,35)	2,04 ± 0,16 (1,83 - 2,25)	3,69 ± 0,09 (3,55 - 3,81)	7,97 ± 0,24 (7,72 - 8,25)
Hortex pomarańczowy	3	2,86 ± 0,12 (2,75 - 3,10)	2,68 ± 0,09 (2,59 - 2,82)	3,23 ± 0,13 (3,06 - 3,38)	8,78 ± 0,24 (8,51 - 9,23)

Zawartość cukrów podana na etykiecie powinna być sumą składników naturalnie występujących w produkcie oraz tych ewentualnie dodanych. Jednak często zdarzają się niezgodności lub brak informacji o rodzajach cukrów, którymi są słodzone soki i napoje.

W przypadku badanych komercyjnych soków informacja dla konsumenta dotyczyła zawartości „węglowodanów ogółem, w tym cukrów”.

## WNIOSKI

1. Opracowana metoda pozwala na separację i oznaczenia ilościowe fruktozy, glukozy i sacharozy w sokach owocowych.

2. Wykazano różnice pomiędzy zawartością oznaczanych cukrów zarówno w sokach komercyjnych, jak i sokach świeżych, wyciskanych z owoców.

3. Badane owoce charakteryzują się zróżnicowaną zawartością cukrów, najwyższą zawartość fruktozy oznaczono w jabłkach i sokach jabłkowych.

A. Lebiedzińska, J. Czaja, K. Brodowska, A. Woźniak, P. Szefer

## ESTIMATION OF SUGARS CONTENT IN FRUIT JUICES USING HPLC METHOD

### Summary

The aim of the study was to apply the HPLC method for quantification of simple sugars in fresh and commercially available fruit juices. The obtained results indicate that the analyzed juices had different fructose, glucose and sucrose content. Moreover, the difference was observed between the estimated and declared simple sugars concentrations in commercially available apple and orange juices.

### PIŚMIENNICTWO

1. *Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.*: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005. – 2. *Cabálková J., Žídková J., Příbyla L., Chmelík J.*: Determination of carbohydrates in juices by capillary electrophoresis, high-performance liquid chromatography, and matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. *Electrophoresis*, 2004; 25: 487-493. – 3. *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. *J. Food Compos. Anal.*, 2005; 18: 121-130. – 4. *Muntean E.*: Simultaneous Carbohydrates Chromatography and Unsuppressed Ion Chromatography in Detecting Fruit Juices Adulteration. *Chromatographia*, 2010; 71: 69-74. – 5. *Li J., Chen M., Zhu Y.*: Separation and determination of carbohydrates in drinks by ion chromatography with a self-regenerating suppressor and an evaporative light-scattering detector. *J. Chromatography A*, 2007; 1155: 50-56. – 6. *Rodriguez-Saona L., Fry F., McLaughlin M., Calvey E.*: Rapid analysis of sugars in fruit juices by FT-NIR spectroscopy. *Carbohydr. Res.*, 2001; 336: 63-74. — 7. *Sanz M., Villamiel M., Martínez-Castro I.*: Inositols and carbohydrates in different fresh fruit juices. *Food Chem.*, 2004; 87: 325-328. – 8. *Soga T., Serwe M.*: Determination of carbohydrates in food samples by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *Food Chem.*, 2000; 69: 339-344. – 9. *Soria A., Samz M., Villamiel M.*: Determination of minor carbohydrates in carrot (*Daucus carota L.*) by GC-MS. *Food Chem.*, 2009; 114: 758-762. – 10. *Versari A., Parpinello G., Mattioli A., Galassi S.*: Characterisation of Italian commercial apricot juices by high-performance liquid chromatography analysis and multivariate analysis. *Food Chem.*, 2008; 108: 334-340.
11. *Wei Y., Ding M.*: Analysis of carbohydrates in drinks by high-performance liquid chromatography with a dynamically modified amino column and evaporative light scattering detection. *J. Chromatogr. A*, 2000; 904: 113-117. – 12. *Mouazen A. M., Dridi S., Rouissi H., De Baerdemaeker J., Ramon H.*: Prediction of selected ewe's milk properties and differentiating between pasture and box feeding using visible and near infrared spectroscopy. *Biosys. Eng.*, 2009; 104: 353-361. – 13. *Hutchinson J., Li J., Farrell W., Groeber E., Szucs R., Dicoski G., Haddad P.*: Comparison of the response of four aerosol detectors used with ultra high pressure liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2011; 1218: 1646-1655. – 14. *Nair L., Werling J.*: Aerosol based detectors for the investigation of phospholipid hydrolysis in a pharmaceutical suspension formulation. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2009; 49: 95-99. – 15. *Kou D., Manius G., Zhan S., Chokshi H.*: Size exclusion chromatography with Corona charged aerosol detector for the analysis of polyethylene glycol polymer. *J. Chromatogr. A*, 2009; 1216: 5424-5428.

Adres: 80-416 Gdańsk, Al. Gen. Hallera 107.