

Bestimmung von Naringin und Hesperidin in Fruchtsäften

S.Marten, J.Harms, Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. H.Knauer GmbH

Einleitung:

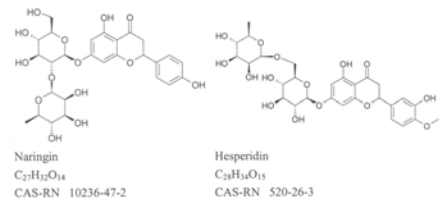
Zitrusfrüchte enthalten eine Vielzahl von Flavonoiden, wobei das geschmacklose Hesperidin als Hauptflavonoid in Orangen und Mandarinen und das bittere Naringin als Hauptflavonoid in Grapefruits vorkommt. Hesperidin in Orangen und Mandarinen sowie der in Orangen höchstens in Spuren vorkommende Grapefruit-Bitterstoff Naringin sind in hoher Konzentration in der Schale und in wesentlich geringerer Konzentration im Saft der Früchte enthalten. Werden Orangenschalen unter hohem Druck ausgepresst, so steigt der Hesperidinanteil, was einen Qualitätsverlust des Getränkes darstellt. Ein erhöhter Anteil von Schalenextrakten (pulp wash) kann daher bei Orangensäften über den Hesperidin- und bei Grapefruitsäften über den Naringingehalt

nachgewiesen werden. Auch Verfälschungen von Orangensäften mit Grapefruitsäften können durch die Gehaltsbestimmung von Naringin und Hesperidin erkannt werden.

Mit dem Smartline HPLC-System von Knauer kann eine unkomplizierte und schnelle Analyse von Naringin und Hesperidin durch den Einsatz einer Eurospher 100 C18 Säule durchgeführt werden. Die Verwendung des Smartline UV-Detektors 2600 ermöglicht dabei den Spektrenvergleich und die sichere Zuordnung während der gesamten Analyse. Die Smartline Anlage besteht aus der Pumpe 1000, dem Multiwellenlängen UV-Detektor 2600 mit DAD-Technologie, dem Autosampler 3900, dem Manager 5000 mit Degassereinheit und dem Säulenofen 4000.

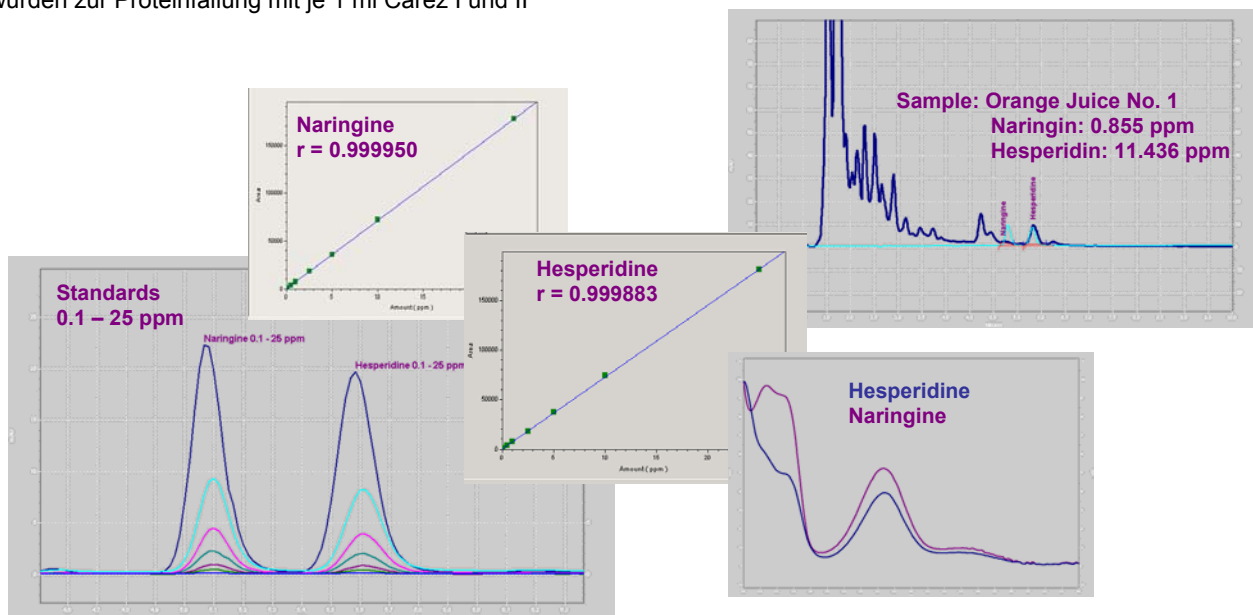
Methodenparameter:

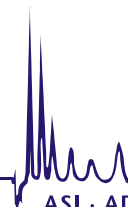
Säule: Eurospher 100-5 C18, 250 x 4 mm (B6Y535)
 Eluent: isokratisch 5 mM Ammoniumacetat / ACN 75 : 25 (v/v), eingestellt auf pH 4,45 mit Essigsäure
 Flussrate: 1 ml/min
 Temperatur: 40 °C
 Injektionsvolumen: 5 µl
 Detektion: UV (Smartline 2600) bei 285 nm



Die Kalibrierlösungen für Naringin und Hesperidin wurden im Konzentrationsbereich zwischen 0,1 ppm bis 100 ppm angesetzt. Um eine bessere Löslichkeit der Standards zu erreichen, wurden die Analyten im Messkolben zuerst in 5 ml Dimethylformamid gelöst und dann mit der Pufferlösung auf das Endvolumen aufgefüllt. 50 ml der zu untersuchenden Fruchtsäfte wurden zur Proteinfällung mit je 1 ml Carez I und II

versetzt. Die Proben wurden dann zentrifugiert und der klare Überstand für die HPLC Analyse durch einen 0,45 µ Filter filtriert. Das Injektionsvolumen betrug bei Standard- und Probenlösungen jeweils 5 µl. Da die Stabilität der Probenlösungen begrenzt ist, sollte die Messung innerhalb von 24 h nach der Probenaufarbeitung abgeschlossen sein.





Ergebnisse:

Für die beiden Standards Naringin und Hesperidin ergaben sich sehr gute lineare Kalibrierkurven mit Regressionskoeffizienten (r) von 0.99988 und besser. Dabei wurde für beide Verbindungen eine Nachweisgrenze von 0,1 ppm ermittelt. Durch die Spektrenkontrolle ist eine zusätzliche Absicherung der ermittelten Probenwerte jederzeit möglich. Bei der Fruchtsaftanalyse wurden ein Multivitamin, 2 Orangensäfte und 1 Grapefruitsaft untersucht.

Fruchtsaft	Naringin	Hesperidin
Multivitamin	2,82 ppm	31,66 ppm
Orangensaft 1	0,85 ppm	11,44 ppm
Orangensaft 2	28,03 ppm	79,25 ppm
Grapefruitsaft	497,41 ppm	25,25 ppm

Die Ergebnisse zeigen für den Orangensaft eine deutliche Qualitätsabstufung von Saft 2 gegenüber Saft 1. Für den hohen Naringinanteil im Grapefruitsaft musste der Kalibrierbereich für Naringin auf 600 ppm erweitert werden. Bei diesem Saft sowie im Orangensaft 2 zeigen die Ergebnisse, dass bei der Produktion ein deutlich höherer Anteil an Fruchtschaleneinhaltsstoffen durch das Auspressen in den Extrakt gelangten.