

Trabajo completo

Identificación y cuantificación de azúcares por cromatografía electrocinética micelar en fase reversa en leche modificada

RECIBIDO: 04/04/2014

REVISIÓN: 02/08/2014

ACEPTADO: 20/08/2014

Gerstner, C. D.^{1,4} • Bernal, C. A.^{1,4} • Marsili, N.² • Maccari, M.³ • Williner, María Rosa^{1*}

¹ Bromatología y Nutrición, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Paraje El Pozo S/N. S3000ZAA, CC 242, Santa Fe, Argentina. Teléfono: 54-342-4575211, Fax: 54-342-4575221.

² Química analítica II, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

³ La Sibila SA, Planta Nogoyá, Entre Ríos, Argentina.

*E-mail: williner@fbc.unl.edu.ar

⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Santa Fe, Argentina

RESUMEN: Se desarrolló un método por electroforesis electrocinética micelar para la determinación simultánea de glucosa, fructosa, lactosa y sacarosa en leches modificadas. La separación de los componentes estudiados se llevó a cabo utilizando capilares de sílice, bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) como surfactante catiónico en el electrolito de corrida, polaridad reversa y detección UV indirecta. Las curvas de calibración fueron lineales con $R^2 > 98,49$. La desviación estándar relativa (RSD %) en todos los casos fue menor a 1,88 % y la recuperación fue entre 95–114 % para la glucosa, 104–110 % para la fructosa, 93–113 % para la lactosa y 92–110 % para la sacarosa. El método analítico propuesto presenta una buena separación de los analitos, implica pretratamiento sencillo de las muestras y genera bajos volúmenes de desecho. La precisión,

exactitud y rapidez, hacen que sea un método útil para la cuantificación simultánea de azúcares en leches modificadas.

PALABRAS CLAVE: leches modificadas, electroforesis capilar, azúcares simples, lactosa.

SUMMARY: *Identification and quantification of sugars by micellarelectrokinetic chromatography in reverse phase in modified milk.*

A method by micellarelectrokinetic electrophoresis for the simultaneous determination of glucose, fructose, lactose and sucrose in modified milks was developed. Separation of the compounds studied was carried out using fused silica capillaries, cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) as cationic surfactant in run electrolyte, reverse polarity and indirect UV detection. Calibration curves were linear with $R^2 > 98.49$. The relative standard deviation (RSD %) in all cases was less than 1.88

% and the recovery was between 95–114 % for glucose, 104–110 % for fructose, 93–113 % for lactose and 92–110 % for sucrose. The analytical method developed provides good separation of the analytes, involves simple pretreatment of samples and low volumes of waste generated.

The precision, accuracy and speed of the method, make it a useful tool for the simultaneous quantification of modified milk sugars.

KEYWORDS: modified milk, capillary electrophoresis, sugars, lactose.

1. Introducción

De acuerdo con el Código Alimentario Argentino (CAA), la cuantificación de lactosa en leche y derivados se realiza según la técnica de Luff–Schoorl. Esta técnica es un método reductométrico, que se basa en la capacidad de los azúcares reductores, como la glucosa, fructosa, lactosa, entre otros, de reducir, en determinadas condiciones, a las sales cúpricas (1). Esta técnica semiempírica posee baja especificidad y no permite diferenciar los azúcares reductores entre sí, haciendo imposible la cuantificación individual (2). A pesar de las dificultades descritas anteriormente, es válido cuantificar lactosa en leche por este método, ya que prácticamente es el único azúcar presente.

En la actualidad, existe en el mercado un gran número de productos lácteos modificados, que contienen no sólo lactosa, sino otros azúcares como glucosa, fructosa, sacarosa, por lo que es necesario cuantificar cada uno de ellos, y no sólo determinar el contenido total. En estos casos, se emplean métodos separativos para identificar y cuantificar estas moléculas neutras de bajo peso molecular. Uno de ellos es la cromatografía líquida de alto rendimiento (CLAR), que cuando se utiliza con detección por índice de refracción (3–5) presenta el problema de la baja selectividad y sensibilidad (6). También puede utilizarse la

detección amperométrica (7), pero no es apropiada para análisis de rutina (8).

Otra técnica separativa utilizada es la electroforesis capilar (EC), en la cual los componentes de una solución se separan mediante la acción de un campo eléctrico aplicado en el interior de un tubo capilar de sílice fundida, de acuerdo con sus movilidades. Esta técnica puede ser utilizada en varios modos diferentes, entre ellos, la electroforesis capilar zonal (ECZ) y la electroforesis electrocinética micelar (MEKC). En la ECZ, el medio de separación es un electrolito de corrida. En la MECK, al electrolito de corrida se le agrega un tensoactivo a una concentración superior de la concentración micelar crítica (CMC). Así, las micelas del surfactante constituyen una pseudofase dentro de la cual las moléculas del analito sufren partición por interacciones hidrofóbicas con el interior lipofílico de la misma. De este modo, durante el proceso la mezcla reguladora está formada por una fase acuosa que se mueve a una velocidad, y por una fase micelar que en función de la carga se mueve a otra, favoreciendo la resolución de los analitos (9–11).

La separación de azúcares por EC se basa en la disociación de sus grupos semiacetales en medio fuertemente alcalino (12–13) o en la formación de complejos con ácido bórico (14). Además, para detec-