



УДК 543.544:543.645.9

Определение молекулярной массы инулина методом гель-хроматографии

Гасанова Е.С., Яровой С.А., Котов В.В., Полянский К.К.

Воронежский государственный аграрный университет им. К.Д. Глинки, Воронеж

Поступила в редакцию 11.03.2011 г.

Аннотация

Методом гель-хроматографии на сорбенте Сефадекс-50 определены молекулярные массы ряда образцов инулина. Выявлена эффективность работы хроматографической колонки и установлено снижение величины ВЭГТ с увеличением молекулярной массы инулина.

Ключевые слова: инулин, гель-хроматография, ВЭГТ (высота эквивалентная теоретической тарелке), топинамбур, инулин.

Definition of molecular weight of some samples an inulin of the method a gel permeation chromatography on sorbent Sephadex-50. It is revealed the overall performance of a chromatographic column and decrease in value height equivalent to a theoretical plate with increase of molecular weight of an inulin is positioned.

Keywords: inulin, gel-permeation chromatography, height equivalent to a theoretical plate, topinambour, inulin

Введение

Инулин – природное соединение, молекулы которого построены из остатков β -D-фруктофуранозы с концевыми остатками α -D-глюкопиранозы [1]. Молекулярная масса инулина колеблется в пределах 4000-7000 Da, т.е. он занимает промежуточную область между олигомерами и высокополимерами. Из природного сырья – топинамбура, якона, цикория и других объектов его извлекают водной экстракцией при повышенной температуре [2].

Инулин находит применение как структурообразователь, сахаро- и жирозаменитель в производстве молочных и других пищевых продуктов. При этом преимуществами обладают высокомолекулярные фракции инулина. Например, высокомолекулярный инулин эффективно используется в производстве майонеза [3], а также способствует нормализации деятельности желудочно-кишечного тракта человека [4].

Определение молекулярных масс полимеров проводится методом гель-хроматографии, как наиболее эффективным. В работе [5] содержатся данные об использовании этого метода для определения молекулярной массы инулина, которая по данным исследователей составляет 5200 Da. Однако, сортовые особенности, а также различные агротехнические приемы могут оказывать влияние на развитие

растений, а следовательно, на условия и величину молекулярной массы инулина. В связи с этим определение молекулярной массы отдельных препаратов инулина является актуальной задачей.

Эксперимент

Объектами исследования были образцы инулина, выделенного из клубней топинамбура сорта «Интерес», выращенного на чернозёме выщелоченном при различных вариантах агротехнического воздействия. Инулин выделялся по методике [2], а затем высушивался. Для хроматографического анализа готовили его водные растворы 3% -ой концентрации.

Использовалась хроматографическая колонка диаметром 1 см, заполненная набухшим в воде сорбентом Сефадекс-50, высотой 12 см. В качестве стандартов использовались полиэтиленгликоли PGC-3000 и PGC-6000, с молекулярной массой соответственно $3 \cdot 10^3$ и $6 \cdot 10^3$ Da.

Растворы объёмом 1 см^3 помещались в верхнюю часть колонки, после чего проводилась элюирование дистиллированной водой со скоростью $3 \cdot 10^{-2}$ см/с. Детектирование растворов стандартов и инулина проводилось на рефрактометре ИРФ – 454Б2М измерением показателя преломления в исследуемой пробе объёмом 1 см^3 вытекающей из колонки жидкости. Далее строились зависимости показателя преломления n от объема жидкости V , проводилось сравнение объёмов выходов с зависимостями n - V для стандартов, и вычислялась молекулярная масса инулина по методике, приведённой в работе [5].

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 показаны кривые элюирования образцов инулина из хроматографической колонки. Полученные данные достаточно сильно различаются между собой как по объемам выхода, так и по ширине хроматографических пиков, что указывает, во-первых, на различие молекулярным масс, а во-вторых, на неоднородность полимеров. Наиболее узкие пики наблюдаются у образцов 1 и 4, а более широкие у образцов 2 и 3. Объёмы выхода исследуемых образцов и стандартов и соответствующие им молекулярные массы приведены в таблице 1.

Таблица 1. Объёмы выхода и молекулярные массы образцов инулина

Образец	PGC		№ образца инулина			
	3000	6000	1	2	3	4
Объём выхода, мл	6.80	9.20	9.10	8.20	8.40	9.35
Молекулярная масса, Da	3000	6000	5900	4870	5100	6200

Представляет интерес оценить эффективность работы хроматографической колонки по величинам ВЭТТ (высота эквивалентная теоретической тарелке). Согласно [6], количество теоретических тарелок N можно вычислить из экспериментально полученных кривых элюирования по методу Глюкауфа, используя величины объема выхода V_e и ширину пика ω , по формуле:

$$N = \left(\frac{4V_e}{\omega}\right)^2 \quad (1)$$

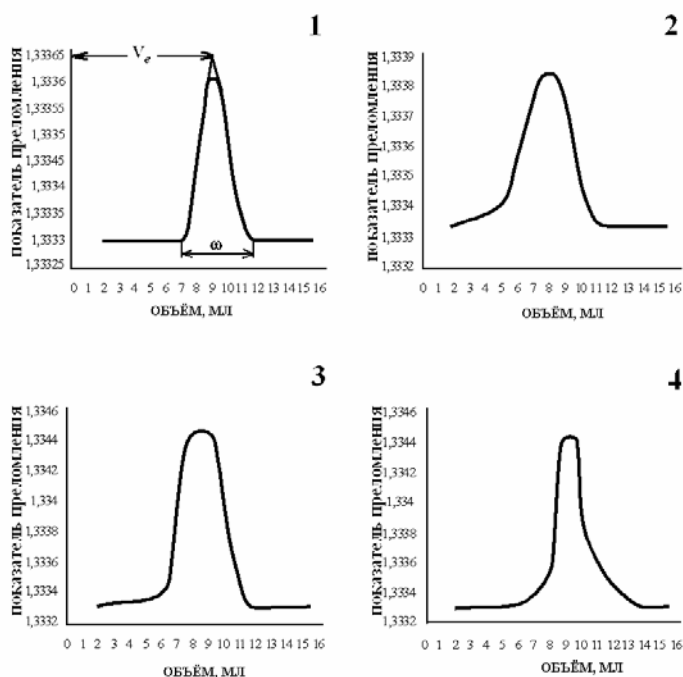


Рис. 1. Кривые элюирования инулина из колонки

Величина ВЭТТ далее вычисляется делением высоты слоя сорбента на полученное значение N . Это можно выполнить, если полученные пики близки к гауссовой кривой, которой в наибольшей степени соответствует кривая элюирования образца инулина (рис. 1). Пример определения V_e и ω показан на рис. 1 кривая 1 для этого образца. Следует сказать, что из двух этих величин на значение N наибольшее влияние оказывает ширина пика, что позволяет предположить снижение эффективности работы колонки с повышением этой величины. На рис. 2 показана зависимость ВЭТТ от средней молекулярной массы инулина. Как следует из данных рис. 2, значение ВЭТТ линейно снижается с увеличением средней молекулярной массы.

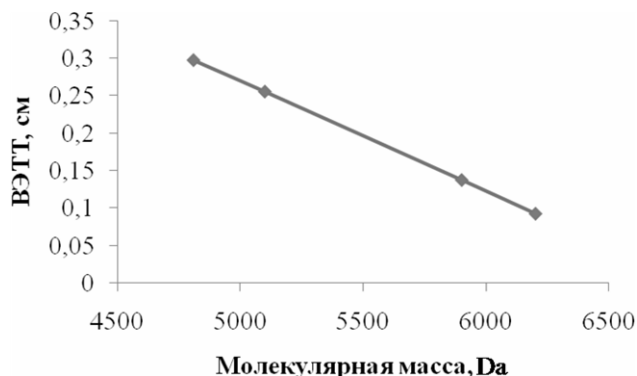


Рис.2. Зависимость ВЭТТ от молекулярной массы инулина

Известно [6], что наиболее важными факторами, влияющими на величину ВЭТТ, является скорость достижения диффузионного равновесия и диффузия в продольном направлении. Это влияние выражено в том, что значение ω

определяется, главным образом, величиной зерен геля. Однако, при работе на одной и той же колонки она не изменяется, поэтому основной причиной снижения эффективности колонки с уменьшением средней молекулярной массы (рис. 2) является, по-видимому, неоднородность образцов по молекулярной массе, т.е. большая ширина молекулярно-массового распределения. Тем не менее, полученные данные показывают достаточно эффективную работу используемой хроматографической колонки, при определении молекулярных масс инулина в характерном для этого вещества интервале.

Заключение

Методом гель-хроматографии на сорбенте Сефадекс-50, определены молекулярные массы ряда образцов инулина. Рассчитанная величина ВЭТТ позволила оценить эффективность хроматографической колонки; показано снижение ВЭТТ с увеличением молекулярной массы инулина.

Список литературы

1. Физер, Л. Органическая химия / Л. Физер, М. Физер – М.: Химия, 1966. – т. II. – 782с.
2. Пат. 2148588 РФ, МКИ 7 С 08 В 37/00, 37/18. Способ получения инулина из клубней топинамбура / В.В. Манешин, В.Д. Артемьев, Ю.П. Васильева. – №98115947/04; заявлено 20.08.1998; опубл. 10.05.2000. Бюл. № 13. – 4с.
3. Майонезы для здорового питания, содержащие инулин. / А.П. Нечаев [и др.] // Масложировая промышленность. – 2005. – №4. – С.33-35.
4. Отчет о клиническом исследовании препарата «Астролин», содержащего инулин. Самарский военно-мед. институт. 2007. – 13с.
5. Исследование продуктов комплексной переработки топинамбура методом гелепроникающей и тонкослойной хроматографии / О. Б. Рудаков [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т.10, вып. 6. – С.916-922.
6. Детерман, Г. Гельхроматография, пер. с нем / Г. Детерман. – М.: «Мир», 1970. – 250 с.

Гасанова Елена Сергеевна – к.с.-х.н., доцент, Воронежский государственный аграрный университет, Воронеж, тел.(4732)-2537172

Яровой Сергей Анатольевич – аспирант кафедры процессов и аппаратов пищевых производств, Воронежский государственный аграрный университет, Воронеж, тел.: (47467)-93350

Котов Владимир Васильевич – д.х.н., профессор кафедры химии, Воронежский государственный аграрный университет, Воронеж

Полянский Константин Константинович – д.т.н., профессор кафедры технологии производства и переработки животноводческой продукции, Воронежский государственный аграрный университет, Воронеж

Gasanova Elena S. - assistant professor Department of Agriculture, Voronezh State Agricultural University, Voronezh

Yarovoy Sergey A. - the post-graduate student of chair «Processes and devices of edible productions», Voronezh State Agricultural University, e-mail: serg.yarovoy@mail.ru, Voronezh

Kotov Vladimir V. - Dr. Sci. Chem., professor Department of Chemistry Voronezh State Agricultural University, Voronezh

Polansky Konstantin K. - Dr.Sci.Tech., the professor of chair «the Production technology and processings of cattle-breeding production» Voronezh State Agricultural University, Voronezh